



BIOGRAFI PENULIS 1



Dr. Ir. Sholeh Avivi, MSi. merupakan putra pertama pengasuh Pondok Pesantren Putri El-Aniesah Kaliwates Jember dari pasangan KH. A. Fauzan Shofwan dan Ibu Nyai Hj. Lilik Maslihah. Lahir di Lamongan pada tanggal 21 Juli 1969. Pendidikan Madrasah di MIN PGAN 6Th Jember (1982), SMP A. Wahid Hasyim Tebuireng Jombang (1985) dan SMAN 1 Jember (1988). Pendidikan S1 (1993), S2 (1995) dan S3 (2000), di selesaikan dari Institut Pertanian Bogor. Menikah dengan Nurul Muanasah SAg., dan di karuniai 4 orang anak. Bidang riset yang di tekuni adalah Pemuliaan Tanaman dengan memanfaatkan Bioteknologi

Rekayasa Genetika. Penelitian Disertasi menghasilkan tanaman transgenik tembakau dan kacang tanah yang mengandung gen PSTV. Sebagian penelitian Disertasi di kerjakan penulis di Queensland Agricultural Biotechnology Centre, Universty of Queensland, Australia pada tahun 1998. Penulis di terima mengabdikan di Program Studi Agronomi Fakultas pertanian Universitas Jember pada tahun 2000. Minat meneliti bidang Rekayasa Genetika lebih intens di lakukan saat bergabung di Center for Development of Advances Sciences and Technology (CDAST) UNEJ, meneliti tebu toleran genangan (Grant Kemenristek DIKTI 2014-2016) dan singkong toleran cekaman air (Grant Kemenristek DIKTI 2016-2018). "Training on The Development and Implementation of Genome Editing in Plant" di selesaikan penulis pada tahun 2018 di Gyeongsang National University (GNU), Korea Selatan. Mulai tahun 2019 dengan memanfaatkan teknologi Genom Editing penulis meneliti tomat tinggi sucrose (Grant Penguatan Program IDB, 2019) bekerjasama dengan Prof. Jae-Yean Kim, GNU. Jabatan penulis di mulai dari menjadi ketua Center for Bisafety (C-Bios) tahun 2002-2005, ketua lab Genetika dan Pemuliaan tanaman pada tahun 2005-2006, di lanjutkan menjadi sekretaris P5 Magister Agronomi tahun 2007-2008. Saat ini penulis di percaya memegang amanah menjadi Sekretaris Lembaga Pengembangan Pembelajaran dan Penjaminan Mutu (LP3M) UNEJ sejak tahun 2017. Buku "Membangun Negeri dengan Singkong (Building The Country With Cassava)" selesai tahun 2018. Buku "Bioteknologi-Rekayasa Genetika Tanaman" dan Buku "Pemuliaan Tanaman: Aplikasi dan Prospek" diselesaikan pada tahun 2019. Buku Teks "Wawasan Lingkungan dan Pertanian Industrial", Buku Teks "Rekayasa Gen dan Bioinformatika", Buku Monograf "Rekombinasi DNA Transformasi Gen Metode Agrobacterium dan Bombardment", dan Buku Monograf "Genom Editing Analisa DNA & Protein" diselesaikan pada tahun 2020. Buku Teks Fisiologi Benih Tanaman Perkebunan, Buku Teks "Fisiologi & Metabolisme Benih" dan Buku Teks "Bioinformatika & Biostatistika Manfaatnya dalam Penelitian Bioteknologi" diselesaikan pada tahun 2021. Sedangkan Buku Monograf "Metabolomik dan Manfaatnya untuk Pemuliaan Tanaman" diselesaikan pada Tahun 2022.

Anggota APPTI No. 002.115.1.05.2020

Anggota IKAPI No. 127/JTI/2018

Jember University Press
 Jl. Kalimantan 37 Jember 68121
 Telp. 0331-330224, psw. 0319
 E-mail: upt-penerbitan@unej.ac.id



METABOLOMIK

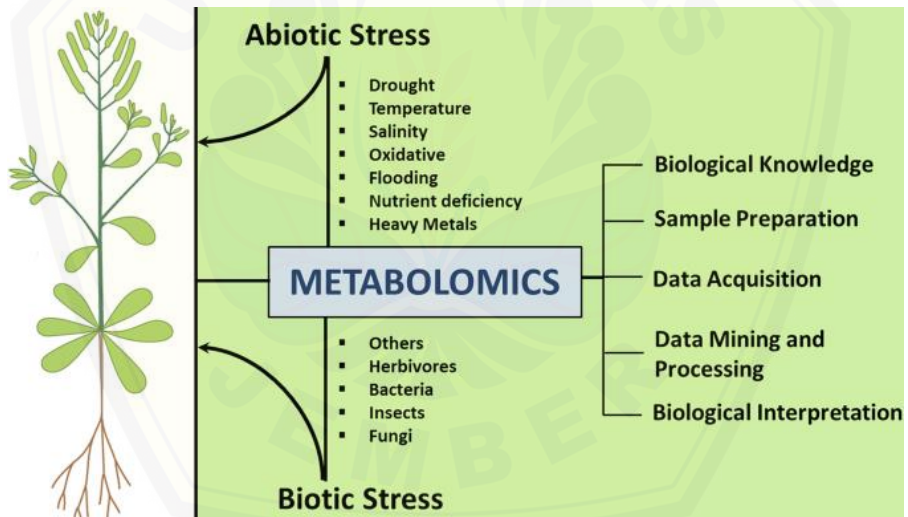
Manfaatnya Bagi Pemuliaan

Sholeh Avivi
 Dwi Mai Abdul Imam Buqori

Monograf

Metabolomik Manfaatnya bagi Pemuliaan

Penulis:
Sholeh Avivi
Dwi Mai Abdul Imam B.



(Ghatak et al., 2018)

UPT PENERBITAN
UNIVERSITAS JEMBER
2022

Metabolomik

Manfaatnya bagi Pemuliaan

Penulis:

Sholeh Avivi

Dwi Mai Abdul Imam B.

Tata Letak

Risky Fahriza

ISBN: 978-623-477-029-2

Cetakan pertama: Desember 2022

Penerbit:

UPT Percetakan & Penerbitan Universitas Jember

Redaksi:

Jl. Kalimantan 37

Jember 68121

Telp. 0331-330224, Voip. 00319

e-mail: upt-penerbitan@unej.ac.id

Distributor Tunggal:

UNEJ Press

Jl. Kalimantan 37

Jember 68121

Telp. 0331-330224, Voip. 0319

e-mail: upt-penerbitan@unej.ac.id

Hak Cipta dilindungi Undang-Undang. Dilarang memperbanyak tanpa ijin tertulis dari penerbit, sebagian atau seluruhnya dalam bentuk apapun, baik cetak, *photoprint*, maupun *microfilm*.

KATA PENGANTAR

Analisis Metabolomik merupakan pendekatan yang dapat digunakan untuk menganalisis senyawa-senyawa metabolit yang dihasilkan oleh tanaman. Bidang ini merupakan bidang yang relative baru pada bidang karakterisasi tanaman melalui senyawa metabolit. Dengan mendapatkan karakteristik senyawa metabolit yang dihasilkan oleh tanaman, maka akan menjadi sumber informasi penting untuk memproduksi senyawa metabolit penting.

Metode ini menjadi pelengkap diantara metode 'omic' lainnya, sehingga dapat diperoleh suatu analisa 'omic' yang lebih lengkap. HPLC, UPLC, NMR dan LC-MS merupakan metode analisa metabolomik yang telah banyak digunakan untuk mengidentifikasi senyawa metabolit primer ataupun sekunder pada tanaman. Pada umumnya, senyawa tersebut banyak memiliki manfaat bagi tanaman itu sendiri ataupun sebagai pengembangan biofarmaka.

Pada monograf Metabolomik Manfaatnya bagi Pemuliaan yang ditulis oleh saudara Sholeh Avivi dan saudara Dwi Mai Abdul Imam Buqori ini, diuraikan secara substansial pengertian dasar metabolomik serta beberapa alternatif metode analisisnya. Buku ini sangat sesuai bagi mahasiswa, dosen dan peneliti yang sedang mempelajari analisis metabolomik primer dan sekunder. Juga sangat sesuai bagi peneliti yang akan melakukan pencarian senyawa-senyawa metabolit tanaman yang memiliki manfaat bagi kehidupan secara luas. Harapan kami buku ini memberikan barokah manfaat bagi semua.

PRAKATA

Puji syukur Penulis panjatkan kepada Allah, Rab yang maha esa. atas rahmat dan ijin-Nya Penulis dapat menyelesaikan Buku Monograf “Metabolomik - Manfaatnya bagi Pemuliaan”. Tujuan dari penyusunan buku ini adalah menyediakan buku referensi pendekatan metabolomik untuk pengembangan pemuliaan tanaman, berbahasa Indonesia terutama untuk mahasiswa yang berminat terhadap bioteknologi.

Buku monograf ini dirancang agar mudah untuk dipelajari dan dipahami. Namun demikian penulis mengakui ada keterbatasan-keterbatasan sehingga buku ini masih jauh dari kesempurnaan. Buku ini secara umum memuat kajian secara teoritis, sehingga sangat disarankan bagi pembaca untuk melengkapi informasi dengan buku atau artikel ilmiah lainnya.

Selanjutnya kami mengucapkan terimakasih kepada semua pihak yang telah mendukung terwujudnya buku monograf ini. Akhir kata, kami penulis berharap agar buku ini dapat diterima dan memberi kemajuan wawasan bagi pembaca dan dunia pendidikan.

Penulis

DAFTAR ISI

| | |
|---|-----|
| KATA PENGANTAR | iii |
| PRAKATA..... | iv |
| DAFTAR ISI | v |
| DAFTAR GAMBAR..... | vii |
| DAFTAR TABEL | ix |
| 1.1 Pendahuluan..... | 1 |
| 1.2 Metabolomik dalam Biologi Tumbuhan | 2 |
| 1.3 Alat Analisis Metabolomik | 6 |
| 1.4 Alur Kerja Analisis Metabolomik..... | 11 |
| 1.4.1 Persiapan Sampel | 11 |
| 1.4.2 Pengumpulan Data, Anotasi dan Proses | 13 |
| 1.4.3 Alat Statistik dan Identifikasi Biomarker | 14 |
| 1.4.4 Alat Bioinformatik dan Database | 16 |
| 1.5 Metabolomik untuk Pengembangan Tanaman Pangan | 19 |
| 1.5.1 Toleransi Cekaman Abiotik..... | 20 |
| 1.5.2 Toleransi Cekaman Biotik..... | 42 |
| 1.5.3 Metabolomik Tanah | 45 |
| 1.6 Metabolomik Dalam Pemuliaan Tanaman | 46 |
| 1.6.1 Metabolomik QTLs..... | 47 |
| 1.6.2 Asosiasi Metabolomik dalam Genom | 49 |
| 1.7 Tantangan Analisis Metabolomik | 51 |
| 1.8 Pengembangan Metabolomik Masa Depan | 52 |
| PENUTUP | 54 |
| DAFTAR PUSTAKA | 55 |
| DAFTAR ISTILAH / GLOSARIUM | 80 |
| BIOGRAFI PENULIS 1 | 82 |

BIOGRAFI PENULIS 2..... 84



DAFTAR GAMBAR

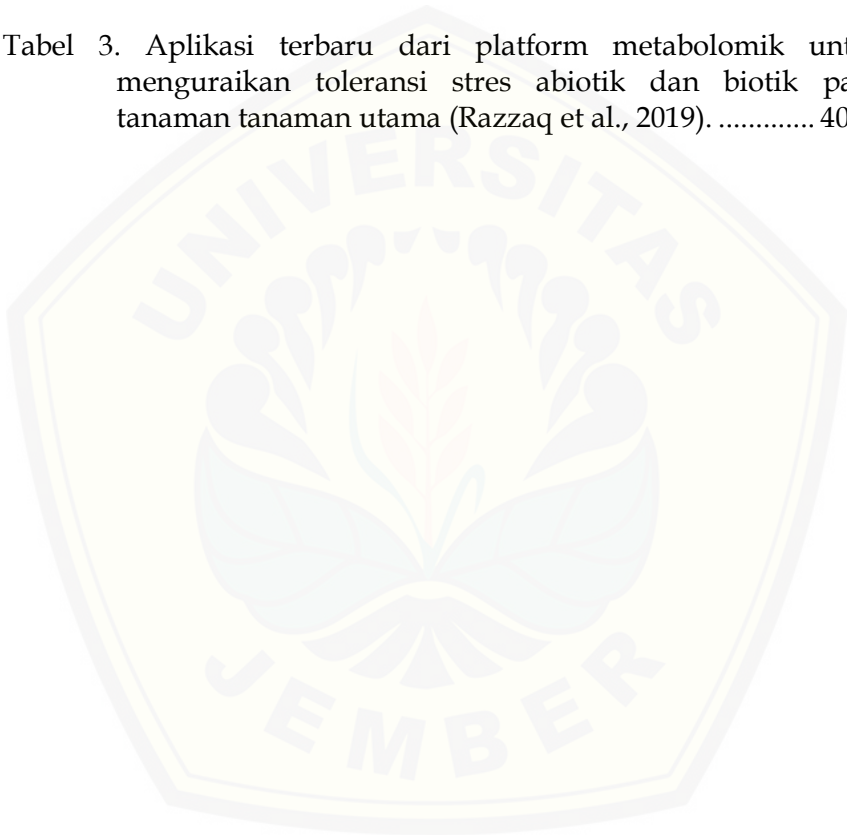
- Gambar 1. Sistem biologi untuk memahami mekanisme stres tanaman. Dogma sentral biologi tanaman menunjukkan aplikasi terintegrasi genomik, transkriptomik, proteomik, metabolomik, dan fenomik di bawah tekanan biotik/abiotik (Sung et al., 2015). 4
- Gambar 2. Bagan alir yang menguraikan mekanisme papan dalam analisis metabolomik tanaman untuk perbaikan tanaman (Han et al., 2012). 20
- Gambar 3. Representasi skema jalur biosintesis tanaman yang terlibat dalam biosintesis metabolit primer dan sekunder pada tanaman. Beberapa senyawa dan prekursor yang terwakili memiliki konsentrasi yang diubah sebagai respons terhadap tekanan biotik dan abiotik. Pemahaman tentang dinamika dan mekanisme perubahan tersebut, serta fungsi biologisnya, sangat penting untuk mendukung pengembangan kultivar baru yang lebih toleran atau tahan terhadap kondisi lingkungan yang merugikan. Dalam konteks ini, strategi pembuatan profil metabolik adalah alat yang sangat berharga untuk mengakses informasi mengenai perubahan metabolik ini (Gong et al., 2013). 24
- Gambar 4. Metabolit primer dan sekunder yang konsentrasinya diubah pada spesies legum yang mengalami cekaman air. Senyawa representatif diatur sesuai dengan jalur biosintetiknya seperti yang ditunjukkan pada Gambar 3. Dengan warna biru, gula; dalam warna biru muda, antioksidan; dalam warna oranye terang, poliamina; dalam warna kuning cerah, asam amino; dalam warna pink, fitohormon; dalam warna hijau, senyawa fenolik; dalam senyawa turunan TCA asam trikarboksilat berwarna kuning (Rochfort et al., 2015). 25

Gambar 5. *Quantitative trait loci* (QTL) untuk ekspresi gen atau fenotipe molekuler. Aliran informasi molekuler direpresentasikan dari DNA ke fenotipe sebagai respons terhadap sinyal stres biotik/abiotik (Guijas et al., 2018).
..... 47



DAFTAR TABEL

- Tabel 1. Perbandingan alat yang biasa digunakan dalam metabolisme tanaman (Razzaq et al., 2019). 8
- Tabel 2. Daftar alat bioinformatika dan statistik untuk alur kerja analisis metabolomik tumbuhan (Razzaq et al., 2019).. 18
- Tabel 3. Aplikasi terbaru dari platform metabolomik untuk menguraikan toleransi stres abiotik dan biotik pada tanaman tanaman utama (Razzaq et al., 2019). 40



Halaman ini sengaja dikosongkan



1.1 Pendahuluan

Metabolomik adalah studi pada makhluk hidup yang berskala besar yang mempelajari molekul-molekul kecil berupa metabolit yang berukuran berkisar antara 50-1500 Dalton (Da). Metabolit berada dalam sel, jaringan dan organ. Juga mempelajari berbagai interaksi antara metabolit tersebut dalam sistem biologis.

Metabolomik berbeda dengan genomik. Genomik mempelajari tentang gen yang ukurannya jauh lebih besar dari metabolit. Gen jika sudah di ekspresikan bisa menjadi protein dan enzim yang terdiri dari gabungan banyak asam amino-asam amino. Metabolit ini lebih dikenal sebagai senyawa senyawa sederhana yang merupakan produk atau reaktan dalam reaksi kimia, seperti glukosa, asam amino, lipid, dll.

Metabolomik adalah cabang baru dari "omics/penanda" yang melibatkan identifikasi dan kuantifikasi metabolit serta jejak kimia dari proses regulasi seluler pada spesies biologis yang berbeda. Metabolomik adalah kumpulan metabolit total dalam suatu organisme, yang dapat diukur untuk mengkarakterisasi variasi genetik atau lingkungan. Metabolomik memainkan peran penting dalam mengeksplorasi interaksi genetik-lingkungan, karakterisasi mutan, fenotip, identifikasi biomarker, dan penemuan obat. Metabolomik adalah pendekatan yang menjanjikan untuk menguraikan berbagai jaringan metabolisme yang terkait dengan toleransi cekaman biotik dan abiotik pada tanaman. Dalam konteks ini, pemuliaan yang dibantu metabolomik memungkinkan penyaringan yang efisien untuk hasil dan toleransi stres tanaman pada tingkat metabolisme. Alat analisis metabolomik tingkat lanjut seperti : *non-destructive nuclear magnetic resonance spectroscopy* (NMR), *liquid chromatography mass-spectroscopy* (LC-MS), *gas chromatography-mass spectrometry* (GC-MS), *high performance liquid chromatography* (HPLC), dan *direct flow injection* (DFI) *mass spectrometry*, telah mempercepat profil metabolik. Saat ini, mengintegrasikan metabolomik dengan *post-genomic tools* telah memungkinkan diseksi yang efisien dari asosiasi genetik dan fenotipik pada tanaman

tanaman. Monograf ini memberikan wawasan tentang alat metabolisme tanaman mutakhir untuk perbaikan tanaman. Selain itu, kami menggambarkan alur kerja penelitian metabolisme tanaman yang berfokus pada penjelasan mekanisme toleransi cekaman biotik dan abiotik pada tanaman. Selanjutnya, potensi pemuliaan berbantuan metabolomik untuk perbaikan tanaman dan aplikasinya di masa depan dalam pemuliaan tanaman. Dalam bagian akhir, kami juga mengulas tentang tantangan dan prospek masa depan pengembangan analisis metabolomik dalam biologi tumbuhan.

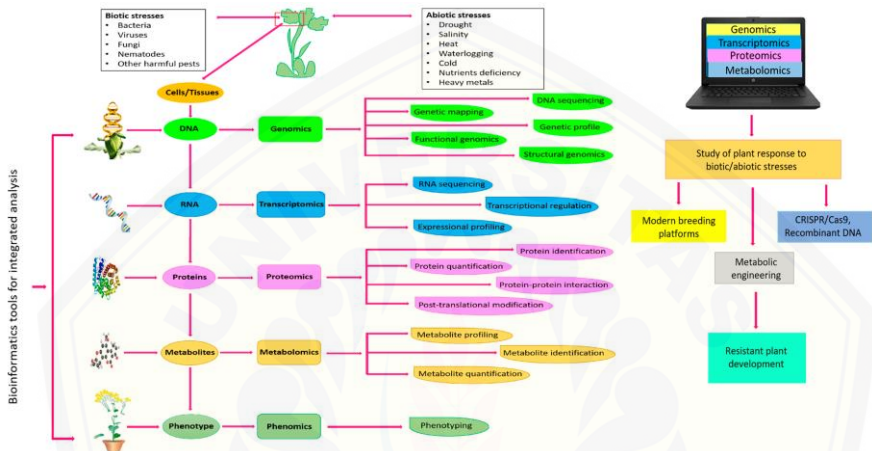
1.2 Metabolomik dalam Biologi Tumbuhan

Metabolomik adalah salah satu pendekatan yang muncul dan menarik dari alat omics, yang kini telah diterapkan secara luas untuk perbaikan tanaman. Metabolomik sangat penting untuk mempelajari toleransi cekaman abiotik, resistensi patogen, ekotipe yang kuat, dan pemuliaan tanaman dengan bantuan metabolik. Sampai saat ini, kemajuan besar telah dibuat untuk mengembangkan alat metabolisme modern untuk perbaikan tanaman [1]. Kerajaan tumbuhan mengandung keanekaragaman metabolit yang sangat besar sekitar 200.000 senyawa dan sebagian besar masih belum diketahui. Diperkirakan sekitar 10.000 metabolit sekunder telah ditemukan pada spesies tanaman yang berbeda. Metabolit yang ditemukan secara struktural berbeda dalam sifat dan fungsinya biokimia dan dianggap sangat penting dalam biologi tanaman [2]. Platform metabolomik modern sedang dieksploitasi untuk menjelaskan jalur biologis yang kompleks dan menjelajahi jaringan regulasi tersembunyi yang mengendalikan pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Metabolome terdiri dari satu set lengkap metabolit dengan berat molekul rendah dalam sistem biologis. Penelitian metabolisme terutama berkaitan dengan identifikasi dan kuantifikasi molekul kecil (<1500 Da), struktur kimianya, dan interaksi dalam suatu organisme [3]. Banyak metabolit yang unik dan memainkan peran penting dalam hasil panen dan kontrol kualitas nutrisi [4]. Pertumbuhan dan perkembangan tanaman di bawah kondisi lingkungan yang berbeda sangat dipengaruhi oleh sintesis sejumlah besar metabolit. Metabolomik lingkungan

melibatkan penyelidikan interaksi tanaman dengan lingkungannya. Hal ini didasarkan pada evaluasi rinci tingkat metabolit di bawah ekologi tanaman tertentu untuk menunjukkan efek pada adaptasi tanaman dan modifikasi apapun dalam arsitektur genetik mereka. Ini menyediakan platform untuk memeriksa interaksi lingkungan-organisme untuk mengukur fungsi tanaman secara rinci [5]. Aplikasi penting lainnya dari metabolomik, yang disebut sebagai metabolomik ekologi, berkaitan dengan analisis koneksi biokimia tanaman di seluruh sistem temporal dan spasial yang berbeda. Ini bertujuan untuk menguraikan kemungkinan dampak tekanan abiotik/biotik pada setiap proses biokimia penting melalui identifikasi metabolit sebagai respons terhadap faktor lingkungan. Ini menjelaskan sifat biokimia dari banyak fenomena ekologi penting, seperti efek beban parasit, terjadinya penyakit, dan infeksi. Hal ini juga membantu untuk mengevaluasi interaksi antara dua tingkat trofik atau beberapa dampak faktor abiotik dengan hubungan intra dan interspesifik. Variasi konsentrasi berbagai metabolit dapat memberikan indikasi mekanistik untuk jaringan biokimia yang menjelaskan umpan balik fenotipik dan fisiologis tanaman terhadap fluktuasi lingkungan [6]. Potensi penuh dari metabolisme ekologis belum dieksplorasi.

Cekaman biotik dan abiotik mempengaruhi produktivitas tanaman dan menyebabkan penurunan besar-besaran dalam hasil panen tahunan global. Alat-alat metabolisme dapat diintegrasikan dengan alat-alat omics lainnya, seperti genomik, transkriptomik, dan proteomik, untuk mengatasi cekaman abiotik/biotik pada tanaman [7]. Ini membantu untuk menganalisis berbagai metabolit tanaman eksogen dan endogen di bawah tekanan iklim yang ekstrim dan merupakan kunci untuk memahami sistem biologi tanaman. Penerapan strategi berbasis omics untuk memahami proses regulasi stres dari genom ke fenomena diilustrasikan pada Gambar 1. Metabolom tanaman terdiri dari dua jenis metabolit yaitu primer dan sekunder. Profil metabolik metabolit primer dan sekunder memberikan pengetahuan yang luas tentang proses biokimia yang terjadi selama metabolisme tanaman [8]. Beberapa metabolit primer dan sekunder tanaman dapat saling terkait dengan jalur metabolisme

yang sangat kompleks. Keberhasilan deteksi, identifikasi, penilaian, dan evaluasi metabolit ini dimungkinkan melalui alat metabolisme canggih, seperti kromatografi gas-spektrometri massa (GC-MS), spektroskopi massa kromatografi cair (LC-MS), dan magnet nuklir non-destruktif. spektroskopi resonansi (NMR) [9].



Gambar 1. Sistem biologi untuk memahami mekanisme stres tanaman. Dogma sentral biologi tanaman menunjukkan aplikasi terintegrasi genomik, transkriptomik, proteomik, metabolomik, dan fenomik di bawah tekanan biotik/abiotik (Sung et al., 2015).

Metabolit primer penting untuk biosintesis lipid, gula, dan asam amino pada tanaman. Mereka memediasi asam trikarboksilat dan siklus glikolisis selama fotosintesis dan dengan demikian mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Variasi dalam sintesis metabolit primer dapat menyebabkan fotosintesis tidak berfungsi dan penyesuaian osmotik yang tidak seimbang pada tanaman. Metabolisme primer menghasilkan produksi metabolit sekunder, seperti flavonoid, atropin, karotenoid, dan asam fitat. Ini tidak penting untuk kelangsungan hidup tanaman dan diproduksi sebagai respons terhadap kondisi stres yang berbeda, seperti suhu tinggi, dingin,

kekeringan, salinitas, dan serangan serangga/hama. Selain itu, metabolit sekunder juga termasuk spesies oksigen reaktif (ROS), antioksidan, dan ko-enzim [10]. Metabolom tanaman juga terdiri dari beberapa metabolit sekunder khusus, seperti fenolat (~10000), alkaloid (~21000), dan terpenoid (>25000), yang menawarkan toleransi terhadap cekaman biotik/abiotik. Baru-baru ini, banyak dari senyawa khusus ini telah ditemukan sebagai biomarker unik yang mengukur kinerja tanaman di bawah lingkungan stres dan berfungsi sebagai komponen penting untuk banyak program perbaikan tanaman [9]. Selama ontogenesis tanaman, metabolit primer dan sekunder disintesis secara terus menerus melalui reaksi biokimia yang kompleks. Oleh karena itu, penting untuk mengungkap proses biokimia metabolisme unik yang terlibat dalam biologi tanaman [11].

Berdasarkan pengetahuan penelitian sebelumnya, banyak metode telah dirancang untuk mendeteksi dan mengidentifikasi metabolit spesifik [12]. Namun, karena komposisi kimia yang beragam, produksi besar-besaran di kompartemen seluler, dan sifat metabolit yang kompleks, tidak ada alat metabolisme tunggal yang dapat digunakan untuk pembuatan profil seluruh metabolisme. Meskipun beberapa metode ekstraksi metabolom dan kombinasi alat analitik sering diterapkan untuk profil metabolik yang sukses [12], platform analitik canggih untuk memecahkan kode seluruh metabolom spesies tanaman apa pun masih dalam fase non-sepele [7]. Metabolomik memiliki prospek yang menjanjikan untuk mempercepat pemilihan bahan pemuliaan yang lebih baik dan menyaring varietas tanaman elit. Integrasi metabolomik dengan alat genomik tanaman modern, seperti *genotype-based sequencing* (GBS), varian genetik *genome-wide*, dan *whole genome sequencing*, membuka cakrawala yang menarik untuk perbaikan tanaman [13].

Alat metabolisme digunakan untuk profil metabolik biofluida dan berbagai jaringan sel, yang terlibat dalam proses seluler yang berbeda, sehingga menggambarkan keseluruhan komposisi fisiologis sel [14]. Ini juga dapat digunakan untuk menyelidiki prototipe gen vital apa pun pada tanaman dan memungkinkan tingkat pemahaman genotip-metabolik-fenotipik. Dibandingkan dengan organisme hidup lainnya, beragam metabolit

tanaman memiliki urutan ketidakstabilan, ukuran, polaritas, kelarutan, kemampuan beradaptasi, dan volatilitas yang berbeda [15-18]. Metabolomik, metabolisme, atau istilah profil metabolit digunakan sebagai alternatif untuk menggambarkan tiga jenis pendekatan, seperti metabolomik yang ditargetkan, metabolomik semi-target, dan metabolomik yang tidak ditargetkan [1,7]. Faktor-faktor seperti kuantifikasi dan deteksi metabolit, akurasi percobaan, metode persiapan sampel, dan evaluasi target spesifik merupakan prasyarat profil metabolik yang efisien. Dalam kasus pendekatan yang tidak ditargetkan, deteksi komposisi struktural dan kimia metabolit sangat penting saat melakukan studi bertarget dan semi-target memungkinkan sifat kimia metabolit dievaluasi sebelum pengadaan data [19].

Tinjauan ini menjelaskan keuntungan dan kerugian dari alat analisis canggih dan alur kerja yang diadopsi dalam penelitian metabolisme tanaman. Di sini, kami juga membahas genetika tanaman dan implikasi biokimia, yang memicu keragaman metabolit tanaman yang luar biasa dan memberikan gambaran tentang mekanisme toleransi stres pada tanaman di bawah kondisi iklim ekstrem. Kami selanjutnya fokus pada era pemuliaan berbantuan metabolomik yang tumbuh cepat untuk perbaikan tanaman dan jebakan dalam studi metabolomik saat ini juga diuraikan.

1.3 Alat Analisis Metabolomik

Penjelasan metabolit tanaman dalam profil metabolik sangat menantang karena koneksi yang tidak memadai antara proteom dan metabolom. Selain itu, sulit untuk mendeteksi beberapa metabolit selama analisis seluruh metabolisme karena kendala teknis, seperti ketidakcocokan instrumen, kurangnya protokol standar, dan volatilitas metabolit yang diinginkan [13]. Dalam metabolomik, tidak ada teknik atau alat tunggal yang dapat digunakan untuk menganalisis semua metabolit yang ada dalam suatu metabolom; sebaliknya, seperangkat teknologi yang berbeda diperlukan untuk menyediakan jumlah cakupan metabolit terbesar. Teknik metabolisme yang berbeda termasuk *mass spectrometry* (MS) [20], *non-destructive nuclear magnetic resonance spectroscopy* (NMR) [21], *high-performance thin-layer chromatography* (HPTLC), *capillary*

electrophoresis-mass spectrometry (CE-MS) [22], gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) [23], liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) [24], direct infusion mass spectrometry (DIMS), ultra-performance liquid chromatography (UPLC), high-resolution mass spectrometry (HRMS) [25], dan Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry (FI-ICR-MS) [26]. Dari data yang diperoleh dengan CE-MS, LC-MS, GC-MS, dan pendekatan terintegrasi berbasis NMR telah diterapkan secara luas untuk analisis metabolomik. Keuntungan dan kerugian dari beberapa teknik analisis umum yang digunakan dalam metabolomik dijelaskan pada Tabel 1.

Pilihan pendekatan metabolomik tergantung pada akurasi, selektivitas, kecepatan, presisi, dan sensitivitas alat analisis apa pun. Untuk studi metabolit yang komprehensif, teknik NMR dapat digunakan dengan mudah di banyak organisme, termasuk tanaman. Pembuatan profil metabolik berbasis NMR adalah teknologi yang cepat, tepat, dan efisien untuk penyaringan dan identifikasi sampel biologis serupa. Ini tidak merusak, selektif, dan sangat mahir dalam memetakan jalur



Tabel 1. Perbandingan alat yang biasa digunakan dalam metabolisme tanaman (Razzaq et al., 2019).

| Alat Analisa | Aplikasi | Keunggulan | Kekurangan | Propertis |
|---|--|---|---|---|
| Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy (NMR) | Tidak merusak; pemeriksaan metabolit; Analisis perbandingan sampel | Kuantitatif; Sangat dapat direproduksi; Kuantifikasi yang akurat; Analisis yang kuat; Kemudahan persiapan sampel; Berikan informasi yang kaya tentang struktur metabolit; Pemisahan tidak diperlukan; Kompatibel dengan padatan dan cairan. | Biaya instrumen yang tinggi; Sensitivitas rendah; Kurangnya platform bioinformatika; Volume sampel yang besar diperlukan; Analisis spektral sibuk dan memakan waktu | Mass range: <~50 kDa; Sensitivity: Low (10–6 M) |
| Liquid Chromatography-Mass Spectrometry (LC-MS) | Baik untuk mendeteksi senyawa polar; Cocok untuk analisis metabolit sekunder seperti vitamin, glukosinolat; flavonoid dan karotenoid; Metode ionisasi: <i>Atmospheric pressure chemical ionization</i> (APCI) and <i>electrospray ionization</i> (ESI) | Sensitivitas tinggi; Selektivitas yang baik; Lebih sedikit volume sampel yang dibutuhkan; Derivatisasi tidak diperlukan; Persiapan sampel minimal; Mencakup sebagian besar metabolisme | Destruktif; Pemisahan kolom LC rendah; Pengurangan kuantifikasi; Penekanan ion; Cocok untuk pembuatan profil yang ditargetkan; Persiapan sampel yang melelahkan | Ukuran: <1500 Da; Tingkat akurasi: 50–100 ppm; Tingkat sensitivitas: Tinggi (10–15 M) |

| Alat Analisa | Aplikasi | Keunggulan | Kekurangan | Propertis |
|---|--|---|--|---|
| Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) | Baik untuk senyawa hidrofobik dan polar seperti vitamin, asam organik, gula, hidrokarbon dan minyak atsiri memiliki berat molekul rendah Metode ionisasi: Electron impact (EI) | Lebih tepat; Daya resolusi tinggi; Cocok untuk analisis senyawa volatil; Sensitivitas yang baik; Ekonomis dibandingkan NMR dan LC-MS; Didukung oleh bioinformatika dan database; Dapat direproduksi | Diperlukan derivatisasi; Destruktif; Tidak cocok untuk senyawa yang tidak mudah menguap; Kemungkinan hilangnya ion pseudomolekular | Ukuran: <350 Da; Tingkat akurasi: <50 ppm; Tingkat sensitivitas: Tinggi (10–12 M) |
| Fourier-Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR) | Deteksi metabolit yang tidak diketahui dilakukan dengan analisis kimia ion mass to charge ratio (m/z). MALDI beresolusi tinggi | Analisis throughput tinggi; Hemat biaya; Karakterisasi dan pemisahan langsung dalam sampel campuran; Memberikan informasi lebih lanjut tentang data | Tidak layak untuk sampel basah; Spesifisitas kurang; Rentang dinamis terbatas; Masalah terkait isomer | Ukuran: <1500 Da; Tingkat akurasi: <1 ppm; Tingkat sensitivitas: Tinggi (10–18 M) |

metabolisme [27]. Selain itu, reproduktifitasnya yang tinggi menjadikannya alat yang ampuh dalam penelitian metabolomik tanaman. Profil metabolik berbasis NMR secara efisien memantau respons tanaman di bawah tekanan biotik/abiotik pada berbagai tahap perkembangan [18]. Banyak teknik terintegrasi NMR telah diterapkan untuk mengidentifikasi unit struktural metabolit yang tidak diketahui. Alat canggih yang dikembangkan baru-baru ini untuk metabolomik tanaman adalah *one- and two-dimensional* NMR [28], *isotope-labeled* NMR [29], dan *micro-coil* NMR [30]. NMR adalah satu-satunya alat yang dapat mendeteksi pelabelan spesifik dari isotop stabil [3]. Hal ini dapat melacak molekul *non-zero magnetic* dengan satu atau lebih atom, seperti ^{31}P , ^{15}N , ^{14}N , ^{13}C , dan ^1H , dan memungkinkan deteksi metabolit dengan menerima hanya satu

sinyal [31]. NMR adalah pendekatan non-invasif, cepat, sangat kuantitatif, dan tidak bias yang memerlukan persiapan sampel kecil dan tidak memerlukan proses pemisahan kromatografi. Ini membantu untuk menyelidiki senyawa yang terkait dengan polimer tidak larut melalui NMR resolusi tinggi keadaan padat [32]. Dibandingkan dengan MS, NMR memiliki rentang dinamis yang lebih rendah, resolusi yang lebih rendah, dan sensitivitas yang buruk, yang mengakibatkan terbatasnya cakupan metabolit primer dan sekunder dalam penelitian metabolisme tanaman [33]. Namun, penemuan baru-baru ini, seperti pengembangan kumparan frekuensi radio mini, teknik NMR multi-dimensi, magnet superkonduktor [34], dan probe kriogenik [35], telah mengatasi keterbatasan utama dalam teknologi NMR.

Teknik spektrometri massa memberikan manfaat persiapan sampel yang cepat dan pemeriksaan dalam keadaan alamnya [17]. *Ultra-high-performance liquid chromatography* (UPLC) dan *high-performance liquid chromatography* (HPLC) adalah alat konvensional untuk analisis metabolit. Namun, integrasi alat ini dengan spektrometri massa menyediakan platform analitis yang efisien untuk profil metabolisme tanaman [36]. GC-MS telah diakui sebagai teknologi analitik throughput tinggi dengan tingkat sensitivitas tinggi untuk profil metabolik. Ini menawarkan deteksi, pemisahan, dan identifikasi yang sangat luar biasa karena penerapan titik suplai ionisasi dampak elektronik (EI). GC-MS juga dapat digunakan untuk menyelidiki metabolit primer, seperti asam amino, asam organik, gula, alkaloid, lipid, keton, ester, peptida, dan gula-fosfat. Keuntungan dari GC-MS termasuk presisi, sensitivitas tinggi dan resolusi, mengurangi biaya operasional, dan profil metabolisme yang cepat [37]. Namun, GC-MS hanya dapat digunakan untuk mendeteksi senyawa yang tidak stabil secara termal dan mudah menguap [38].

Berbeda dengan pendekatan GC-MS, LC-MS menggunakan sumber *electrospray ionization* (ESI) untuk menganalisis metabolit dengan berat molekul tinggi, yang bersifat polar dan termo-labil. Ini dilakukan sebagian besar untuk profil metabolit sekunder, termasuk vitamin, glukosinolat, flavonoid, dan karotenoid, tetapi juga dapat digunakan untuk deteksi metabolit primer. LC-MS memiliki fitur

unik yang memungkinkan penyelidikan langsung metabolit dalam sampel apapun tanpa perlu derivatisasi [39]. Selain itu, profil metabolik berbasis LC-MS dilakukan dengan metode yang ditargetkan dan tidak ditargetkan. Dalam teknik yang ditargetkan, satu set metabolit diidentifikasi dan diukur sementara dalam pendekatan non-target, berbagai jenis senyawa kimia, seperti lipid, asam amino, dan turunannya, terdeteksi [1]. Dalam metabolomik tanaman, pendekatan terintegrasi LC dan MS banyak digunakan untuk penelitian analitik karena akurasi dan sensitivitasnya yang lebih besar [12]. Alat canggih spektrometri massa, seperti *desorption electrospray ionization mass spectrometry* (DESI) dan *matrix-assisted laser desorption ionization* (MALDI), telah diterapkan untuk mencapai pencitraan resolusi tinggi dalam metabolomik yang menunjukkan pola pengaturan metabolit dalam sel dan jaringan tanaman [40]. Dengan aplikasi pendekatan MS yang terintegrasi baru-baru ini, metabolomik telah muncul sebagai strategi yang lebih fleksibel daripada genomik dan proteomik. Memang, profil metabolisme berbagai tanaman, seperti gandum, beras, jagung, sorgum, dan kedelai, menunjukkan aplikasi yang luar biasa dari metabolomik dalam biologi tanaman [4,41-44].

1.4 Alur Kerja Analisis Metabolomik

Langkah-langkah inti yang terlibat dalam desain eksperimental metabolomik adalah persiapan sampel, akuisisi data melalui strategi analitik, dan pemanfaatan teknik *chemo-metric* yang sesuai untuk penambangan data [45]. Langkah-langkah ini dijelaskan secara singkat:

1.4.1 *Persiapan Sampel*

Cara dan metode mempersiapkan sampel merupakan satu bagian sangat penting dari metabolomik karena akan mengakibatkan dampak yang sangat besar pada hasil akhir pengujian [45]. Jaringan tanaman di atas permukaan tanah, seperti biji, batang, dan akar dapat digunakan sebagai bahan sampel [46]. Dalam eksperimen metabolisme tanaman, teknik pemintalan sudut ajaib resolusi tinggi banyak digunakan meskipun tidak cocok untuk

ekstraksi metabolit sekunder tanaman yang memainkan peran penting dalam mekanisme pertahanan diri tanaman [47].

Tujuan utama preparasi sampel adalah untuk memisahkan metabolit dari unsur yang tidak diinginkan dan memperkaya metabolit yang diinginkan. Teknik preparasi sampel terbaik harus cepat, ekonomis, sederhana, mudah, dan menjunjung tinggi integritas sampel [48]. Persiapan sampel tanaman untuk analisis metabolisme melibatkan empat langkah: Pemanenan bahan tanaman, pendinginan, ekstraksi, dan analisis sampel. Tergantung pada karakteristik metabolit dan pilihan metode analisis, langkah ekstraksi dan pembekuan dapat diabaikan. Selain itu, pemanenan dan pendinginan bahan sampel adalah sama untuk semua alat analisis tetapi pendinginan bahan sampel tunduk pada sifat biologis sampel. Pengambilan sampel harus dilakukan dengan hati-hati, karena metabolisme tanaman sensitif terhadap reaksi enzimatik yang mendegradasi berbagai metabolit. Biasanya, bahan tanaman didinginkan dalam nitrogen cair segera setelah panen untuk menghindari perubahan metabolisme [45]. Demikian pula, umur sampel tanaman juga sangat penting karena profil metabolisme daun muda sangat berbeda dengan daun dewasa. Menghindari degradasi enzimatik dari bahan sampel sangat penting untuk persiapan sampel [49].

Banyak protokol ekstraksi telah dikembangkan dalam beberapa tahun terakhir untuk analisis metabolomik [46,50]. Secara konvensional, alu dan mortar digunakan untuk menggiling daun [51], dan ini sekarang telah diganti dengan metode lain, termasuk penggiling listrik, liser jaringan, dan osilator ultrasonik. Pemilihan pelarut ekstraksi juga sangat penting dalam ekstraksi metabolit. Pelarut seharusnya tidak memiliki sinyal dan mudah dipisahkan tanpa memicu reaksi biokimia. Metanol berair, etanol, asam perklorat, asetonitril, dan air biasanya digunakan sebagai pelarut ekstraksi [46]. Pilihan protokol ekstraksi tergantung pada laju disolusi dan kelarutannya. Komponen biologis, seperti selulosa atau lignin, dapat berinteraksi dengan metabolit dan akibatnya mempengaruhi laju disolusi. Salah satu metode konvensional yang digunakan untuk ekstraksi sampel adalah ekstraksi Soxhlet. Dalam teknik ini, sampel dipanaskan terus menerus, dan pelarut pekat

digunakan untuk ekstraksi. Mikroekstraksi fase padat adalah metode penting yang digunakan secara luas untuk profil metabolik yang ditargetkan dan tidak ditargetkan melalui pendekatan spektrometri massa [52]. *Laser microdissection* (LMD) adalah teknik yang sangat baik untuk mengisolasi sel yang diinginkan dari sampel mikroskopis. Itu tidak mempengaruhi kimia dan morfologi metabolit yang diinginkan dalam sampel [53]. Ekstraksi berbantuan gelombang mikro (*microwave-assisted extraction/MAE*) adalah metode ekstraksi sampel berkecepatan tinggi dan akurat lainnya dalam metabolomik [46]. Untuk metabolit volatil, metode efisien yang disebut ekstraksi cairan superkritis dapat digunakan [54]. Banyak metode preparasi sampel lain yang ada, termasuk *ultrasound-assisted extraction* (UAE) [55], ekstraksi berbantuan enzim [56], *solid phase microextraction* (SPME), dan *Swiss rolling technique* [57]. Dengan inovasi baru dalam metabolomik, metode baru untuk ekstraksi muncul dari hari ke hari sesuai dengan pemilihan teknik analisis dan sifat metabolit.

1.4.2 Pengumpulan Data, Anotasi dan Proses

Era modern metabolomik memberikan wawasan mendalam tentang kompleksitas molekul hilir genom, transkriptom, dan proteom tanaman baik dalam kondisi pertumbuhan normal atau sebagai respons terhadap berbagai tekanan. Analisis seluruh metabolisme telah menetapkan sejumlah besar kumpulan data karena banyaknya jumlah metabolit yang ada di berbagai bagian sel atau jaringan tanaman. Sifat dan komposisi metabolit yang rumit dalam sampel tanaman yang berbeda membuat analisis data metabolomik menjadi lebih kompleks. Tujuan dasar untuk analisis seluruh metabolisme adalah untuk mengkategorikan metabolit yang berbeda dari berbagai sampel tanaman yang disebabkan oleh berbagai faktor [58]. Sejumlah besar data dapat dihasilkan oleh metabolomik, sehingga disebut teknik kaya data [59]. Analisis metabolomik yang efektif bergantung pada ilmu pengetahuan basah dan kering [60]. Alat otomatis yang kuat diperlukan untuk mengelola kumpulan data besar, dan membubuhi keterangan dan menyimpan data mentah [61]. Tantangan nyata dalam metabolomik tanaman adalah mengekstrak informasi akurat tentang metabolit

spesifik dari kumpulan data masif yang dihasilkan oleh teknik-teknik canggih. Langkah-langkah dasar yang terlibat dalam data mining termasuk pra-pemrosesan, pra-perawatan, dan analisis statistik data [62,63]. Oleh karena itu, alat statistik yang canggih diperlukan untuk secara cepat menentukan dan mengukur semua target dalam sampel. Data mentah yang diperoleh dari analisis sampel dikenai serangkaian analisis statistik untuk menghasilkan matriks data numerik dan menyelaraskan data ini untuk diproses lebih lanjut.

1.4.3 Alat Statistik dan Identifikasi Biomarker

Metabolomik mengukur kelimpahan metabolit sebagai biomarker prediktif untuk diagnosis penyakit. Ini juga menilai perubahan genetik serta lingkungan yang diinduksi dalam konsentrasi metabolit. Identifikasi biomarker bergantung pada analisis data menggunakan metode statistik yang berbeda. Penyelidikan penanda metabolik terhubung dengan konsep menghubungkan variabel respons, seperti fenotipe yang diinginkan, dengan variabel penjelas yang mewakili biomarker. Platform statistik multi-dimensi yang sesuai adalah wajib untuk analisis maju cepat untuk memperkirakan hubungan antara metabolit dan variabel fenotipik. Korelasi Pearson berpasangan dapat digunakan untuk menemukan biomarker tertentu, di mana hanya satu metabolit yang terhubung ke fenotipe yang diinginkan. Meskipun, lebih dari satu analisis metabolit diperlukan untuk merancang model prediktif, dan *canonical correlation analysis* (CCA) sering diterapkan untuk mempelajari korelasi maksimal antar variabel [64,65].

Alat statistik dapat digunakan untuk menangani data metabolomik throughput tinggi yang sebagian besar diadaptasi dari teknologi omics yang sudah ada. Banyak alat statistik yang awalnya dikembangkan untuk analisis transkriptomik juga dapat digunakan untuk analisis data metabolomik. Secara tradisional, dalam setiap data metabolomik, kami bertujuan untuk melihat perbedaan kelompok baik secara univariat, yaitu, mode parameter demi parameter menggunakan teknik univariat (analisis varians (ANOVA), Mann-Whitney U-test). Analisis univariat umumnya

dilakukan untuk penemuan biomarker pada tingkat awal biologi sistem, yang mempelajari satu variabel pada waktu tertentu. Selain itu, juga dapat memverifikasi kinerja dan legitimasi dugaan penanda metabolik [66]. Di sisi lain, analisis multivariat dapat digunakan untuk skrining kultivar dan ekotipe tanaman, diagnosis penyakit, dan penemuan penanda metabolik [2]. Alat-alat ini telah digunakan untuk evaluasi komparatif yang efisien di antara genotipe dan sampel yang berbeda. Beberapa strategi fusi data membantu untuk mengeksplorasi variasi pada tingkat molekuler hingga fenotipik tanaman [67]. Ada banyak alat statistik multivariat yang tersedia, termasuk ANOVA, *analysis of variance-simultaneous component analysis* (A-SCA), *principal component analysis* (PCA), *partial least squares-discriminant analysis* (PLS-DA), dan *heat map analysis*. Pemilihan alat statistik harus dibuat sesuai dengan skema prosedur eksperimental [68].

Untuk mempelajari data metabolomik throughput tinggi, strategi statistik multivariat umumnya dikategorikan ke dalam dua pendekatan [69]: Pendekatan tanpa pengawasan di mana sampel tak dikenal dianalisis secara statistik, dengan fokus pada struktur alami yang ada dalam kumpulan data; dan teknik yang diawasi, yang bertujuan untuk mengubah kumpulan data multivariat dari analisis metabolik ke demonstrasi unit biologis di bawah pengawasan, kadang-kadang dikenal sebagai platform prediktif [70]. Metode terawasi menggambarkan hubungan antara input dan output yang dapat diamati dalam sampel data tertentu.

PCA diakui sebagai salah satu alat statistik multivariat tanpa pengawasan yang paling penting dan digunakan secara luas untuk pendekatan reduksi multidimensi [71]. Selain itu, PCA bermanfaat dan efisien karena variasi di antara perlakuan atau sampel yang berbeda dapat dibagi dan dijelaskan secara komprehensif dalam berbagai komponen prinsip. Meskipun, PCA tidak dapat memisahkan varians dalam sampel setiap kali faktor multiguna sangat terhubung atau terjadi bersamaan [71]. Di sisi lain, pendekatan PLS memiliki keuntungan dalam mengelola kumpulan data yang bising dan sangat kolinear. Selain itu, ekstensi PLS, seperti *orthogonal PLS* (OPLS), *sparse PLS* (sPLS), dan PLS-DA, juga sering dilakukan dalam analisis data metabolik. Metode OPLS dan PLS

memberikan informasi signifikan yang dapat berguna untuk pemilihan penanda metabolik [72,73]. Alat statistik yang tersedia secara komersial adalah Matlab (<https://www.mathworks.com>) dan SIMCA-P (<http://umetrics.com/products/simca>), yang mengusulkan beberapa jenis prosedur. Beberapa paket lain yang dibuat untuk profil metabolik [74-77] ditunjukkan pada Tabel 2. Karena alat statistik ini diterapkan di berbagai bidang, mereka dapat digunakan dalam beberapa aplikasi perangkat lunak statistik, yang tidak diprogram khusus untuk profil metabolik. Beberapa perangkat lunak pemrograman R yang sangat baik telah dikembangkan untuk berbagai aplikasi dalam penelitian metabolisme tanaman. Alat statistik bahasa paket R dirancang untuk memberikan grafik dan komputasi statistik, dan sejumlah besar teknik analisis statistik digunakan dalam program paket R [78]. Untuk analisis metabolomik univariat dan multivariat, paket R dapat digunakan untuk memandu pengguna dengan cara yang paling nyaman melalui jalur langkah demi langkah mulai dari pemrosesan pra-data hingga penilaian data, evaluasi, interpretasi, dan visualisasi, hingga deteksi hal-hal menarik. metabolisme. Baru-baru ini, beberapa paket perangkat lunak R yang sangat baik telah dirancang untuk analisis data yang dapat direproduksi dan fleksibel, pemodelan berbasis jalur, dan pemodelan linier untuk analisis data kuantitatif. MetabR (<http://metabr.r-forge.r-project.org/>) [79], Metabo Analyst R (<https://github.com/xialab/MetaboAnalystR>) [80], Lilikoi (<https://github.com/lanagarmire/lilikoi>) [81], dan MetaboDiff (<http://github.com/andreasmock/MetaboDiff/a>) [82] adalah beberapa paket perangkat lunak R penting yang tersedia untuk analisis metabolomik.

1.4.4 Alat Bioinformatik dan Database

Waktu tidak lagi menjadi faktor pembatas untuk penambangan data dalam metabolomik karena kemajuan pesat dalam alat analitik dan teknis modern. Informatika komputasi merupakan prasyarat eksperimen metabolomik [83]. Selama beberapa tahun terakhir, banyak program berbasis web online telah dirancang untuk membantu penambangan data metabolomik, penilaian data, pemrosesan data, dan interpretasi data. Pembuangan

platform yang dapat dinilai secara akurat dan ekonomis telah sangat memudahkan desain dan pemeliharaan alat web yang dapat digunakan oleh banyak peneliti dengan sedikit keterampilan bioinformatika dan fasilitas komputasi yang terbatas [84]. Namun, menangani kumpulan data mentah yang besar secara sering melalui internet menimbulkan kelemahan substansial. XCMS adalah alat bioinformatika online (<https://xcmsonline.scripps.edu>), yang memungkinkan data mentah diunggah secara langsung dan membantu pengguna dalam analisis statistik dan pemrosesan data [85]. Server XCMS tidak dapat menangani file data besar karena ruang terbatas. Baru-baru ini, aliran XCMS telah dibuat untuk transfer data terprogram dalam eksperimen LC-MS yang mengurangi waktu pemrosesan data dan meningkatkan kemanjuran sistem online [86]. Hal ini juga dapat digunakan untuk mendeteksi zat mutatif melalui alat MS menerapkan database METLIN [87]. Selain itu, skrip R diprogram in-house untuk mendapatkan output yang terdiri dari karakteristik dalam formasi melalui paket XCMS, yang dapat diterapkan untuk melakukan penyelidikan statistik dan deteksi metabolit melalui database MS/MS dan prediktor formula [88].

METLIN (<http://metlin.scripps.edu>) adalah database online lain yang diterapkan dalam berbagai penelitian terkait dengan profil metabolisme respons stres pada tanaman. Ini bermanfaat untuk profil metabolik metabolit unik dan alur kerja penambangan data, anotasi, dan pemrosesan tidak memakan waktu. Selain itu, memungkinkan pengambilan segera hasil analisis LC/MS, MS/MS, dan FTMS dengan mengizinkan operatornya untuk memasukkan kueri ke dalam database melalui kerangka kerja yang diprogram [89].

MetaGeneAlyse (<http://metagenealyse.mpimgolm.mpg.de/>) adalah alat berbasis web yang menerapkan teknik pengelompokan reguler, seperti analisis komponen independen (ICA) dan k-means. Alat web ini juga menawarkan banyak cara untuk analisis statistik, seperti analisis pengayaan jalur, PLS-DA, dan uji-t [90]. Selama dekade terakhir, MetaboAnalyst telah dimodifikasi secara efisien dengan mengintegrasikan berbagai alat, seperti MetPA (<http://metpa.metabolomics.ca>) [91] dan MSEA (<http://www.msea.ca>) [92]. Platform berbasis web yang signifikan

yang telah digunakan dalam metabolisme tanaman untuk penilaian data, pemrosesan, dan analisis statistik adalah MeltDB (<https://meltDB.cebitec.uni-bielefeld.de>) [93].

Tabel 2. Daftar alat bioinformatika dan statistik untuk alur kerja analisis metabolomik tumbuhan (Razzaq et al., 2019).

| Alat | Weblink | Fungsi Utama |
|----------------|---|----------------------------------|
| MetaboAnalyst | www.metaboanalyst.ca/ | Analisis statistik |
| MetaboSearch | http://omics.georgetown.edu/metabosearch.html | Notasi Data |
| MeltDB 2.0 | https://meltDB.cebitec.uni-bielefeld.de | Proses Data |
| metaP-server | http://metabolomics.helmholtz-muenchen.de/metap2/ | Analisis Data |
| MetExplore | http://metexplore.toulouse.inra.fr | Analisis alur metabolit |
| Metabox | https://github.com/kwanjeeraw/metabox | Analisis alur metabolit |
| METLIN | https://metlin.scripps.edu/ | Metabolite annotation |
| MetAlign | www.metalign.nl | Proses Data & Analisis statistik |
| MetiTree | http://www.metitree.nl/ | Notasi Data |
| Metab | www.metabolomics.auckland.ac.nz/index.php/ | Analisis alur metabolit |
| MetabR | http://metabr.r-forge.r-project.org/ | R package |
| MetaboAnalystR | https://github.com/xialab/MetaboAnalystR | R package |
| Lilikoi | https://github.com/lanagarmire/lilikoi | R package |
| MetaboDiff | http://github.com/andreasmock/MetaboDiff/a | R package |
| MetFrag | http://c-ruttkies.github.io/MetFrag | Metabolite annotation |
| MetaGeneAlyse | http://metagenealyse.mpimp-golm.mpg.de/ | data analysis Metabolit |
| Metacrop 2.0 | http://metacrop.ipk-gatersleben.de | Notasi Data |
| MetAssign | http://mzmatch.sourceforge.net/ | Notasi Data |
| XCMS | https://xcmsonline.scripps.edu | Proses Data |
| MZedDB | http://maltese.dbs.aber.ac.uk:8888/hrmet/index.html | Notasi Data |
| MassBank | http://www.massbank.jp/ | Notasi Metabolit |

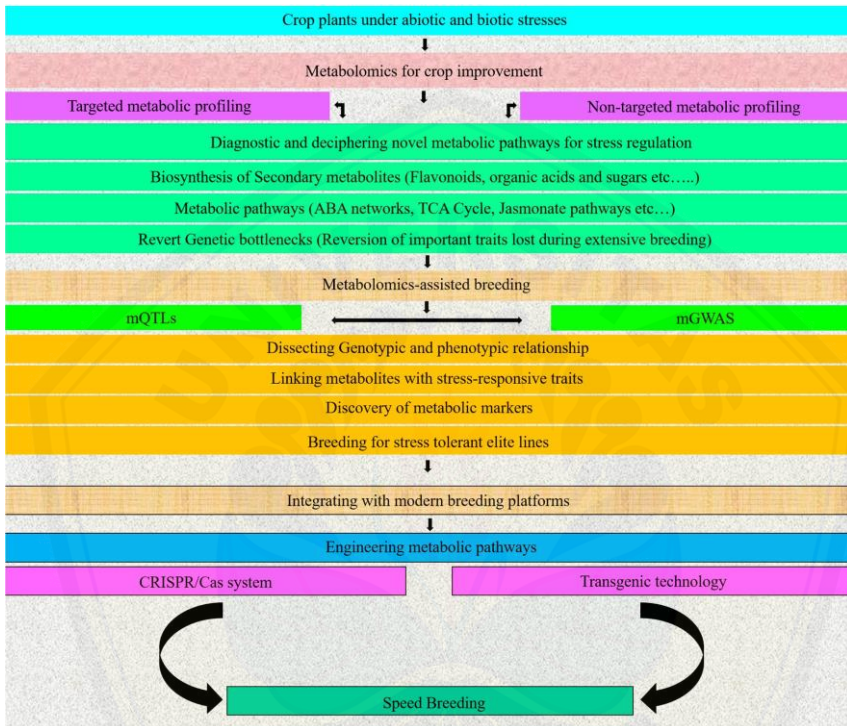
Basis data lain, seperti iMet-Q (http://ms.iis.sinica.edu.tw/comics/Software_iMet-Q.html), MS-Dial (http://prime.psc.riken.jp/Metabolomics_Software/MS-DIAL/), dan MetAlign (www.metalign.nl), dioperasikan oleh GUI windows (antarmuka pengguna grafis) dan tidak memerlukan instalasi lokal

[94–96]. Untuk mempelajari metabolome dengan asal spesies-nonspesifik atau spesies-spesifik, MZedDB dan KEGG (<http://www.genome.jp/kegg/>) telah diterapkan secara luas [97,98]. Baru-baru ini, alat baru, Galaxy-M, telah dikembangkan untuk memeriksa metabolit yang tidak ditargetkan melalui teknik LC-MS [99]. Meta box adalah server online lain dan memiliki banyak aplikasi dalam penjelasan data omics [100]. Babelomics (<http://www.babelomics.org/>) [101] dan Gene Pattern (<http://software.broadinstitute.org/cancer/software/genepattern/>) [102] adalah dua perangkat web berbasis omics yang telah digunakan untuk melakukan analisis statistik univariat dan multivariat, interpretasi data ekspresi gen, dan visualisasi data metabolomik. Tabel 2 menunjukkan berbagai alat bioinformatika statistik, berbasis web, dan online yang banyak digunakan dalam metabolomik tanaman untuk analisis data [103-123].

1.5 Metabolomik untuk Pengembangan Tanaman Pangan

Metabolomik telah muncul sebagai alat yang paling menjanjikan untuk menguraikan toleransi cekaman abiotik pada spesies tanaman. Baru-baru ini, metabolomik telah diterapkan untuk menyelidiki metabolit unik selama siklus hidup tanaman. Cekaman biotik/abiotik memiliki peran penting dalam penurunan hasil panen [16]. Tanaman merespon kedua stres dalam mekanisme yang sama, tetapi stres ini menghasilkan variasi dalam proses biokimia dan fisiologis tanaman. Deteksi organisme yang menyerang tergantung pada pengenalan unit molekul tertentu. Penyerbu memicu sensor kekebalan pada tanaman, memberikan resistensi, termasuk *effector-triggered immunity* (ETI), *pattern-triggered immunity* (PTI), dan *termed pattern recognition receptors* (PRRS) [124]. Pada awal stres abiotik, tanaman mensintesis fitohormon untuk memberikan ketahanan stres [125]. Stres oksidatif mengganggu konduktansi stomata dan mengaktifkan beberapa mekanisme pensinyalan [126]. Secara keseluruhan, profil ekspresi gen spesifik menggambarkan komposisi yang tepat dari metabolit dalam spesies tanaman tertentu. Sebuah agen bioaktif baru disintesis karena aktivasi jaringan metabolisme tertentu [125]. Diagram alir yang menunjukkan langkah-langkah umum yang terlibat dari diagnostik hingga pemuliaan berbantuan

metabolomik untuk perbaikan tanaman ditunjukkan pada Gambar 2. Pada bagian berikut, kami menguraikan peran metabolomik dalam menguraikan toleransi cekaman biotik dan abiotik pada tanaman pangan.



Gambar 2. Bagan alir yang menguraikan mekanisme peran dalam analisis metabolomik tanaman untuk perbaikan tanaman (Han et al., 2012).

1.5.1 Toleransi Cekaman Abiotik

Cekaman abiotik merupakan faktor pembatas utama produksi pertanian dan dapat digambarkan sebagai setiap perubahan kondisi pertumbuhan tanaman yang mempengaruhi metabolisme tanaman, perkembangan normal tanaman, dan fisiologi tanaman. Cekaman abiotik utama yang secara negatif mengatur pertumbuhan tanaman adalah kekeringan, salinitas, suhu ekstrem, genangan air, logam berat, dan pendinginan [127]. Metabolomik telah muncul sebagai alat yang paling menjanjikan

untuk menyelidiki regulasi toleransi cekaman abiotik pada spesies tanaman. Baru-baru ini, metabolomik telah diterapkan untuk menyelidiki metabolit unik yang mengatur mekanisme toleransi cekaman abiotik pada tanaman. Tujuan utama menyelidiki variasi metabolik di bawah tekanan abiotik adalah untuk mendeteksi metabolit berbeda yang memungkinkan pemulihan homeostasis tanaman dan menormalkan modifikasi metabolisme. Selain itu, juga digunakan untuk menyelidiki senyawa spesifik yang bertanggung jawab untuk menawarkan toleransi cekaman abiotik pada tanaman [11,14].

Banyak alat canggih, seperti NMR, LC-MS, dan GC-MS, banyak digunakan dalam studi metabolomik untuk menjelaskan toleransi cekaman abiotik pada tanaman [18]. GC-MS umumnya dapat digunakan untuk profil metabolisme tanaman di bawah tekanan abiotik. Time of flight (TOF-MS) juga memberikan diferensiasi dan deteksi berbagai metabolit yang cepat dan efisien dalam sampel atau perlakuan campuran [11,17,128]. Untuk identifikasi metabolit yang diatur oleh stres abiotik, Fourier-transform ion cyclotron resonance, linear trap quadrupole (LTQ), perangkap ion, *triple quadrupole*, dan *quadrupole* TOF (qTOF) telah digunakan [129]. Semua mekanisme penting pada tanaman dari perkecambahan sampai dewasa sangat dipengaruhi oleh cekaman abiotik [17]. Di bawah cekaman kekeringan dan salinitas, tanaman menghadapi cekaman osmotik dengan mengganggu konsentrasi ion dan homeostasis [130]. Cekaman abiotik sangat mempengaruhi fotosintesis tanaman serta menghambat sintesis semua metabolit primer, termasuk asam amino, gula alkohol, dan gula [131].

Kemajuan terbaru dalam metabolisme tanaman untuk mengidentifikasi toleransi cekaman abiotik pada tanaman utama dirangkum dalam Tabel 3.

1.5.1.1 Cekaman Kekeringan

Kekeringan merupakan faktor pembatas utama untuk produksi pertanian di seluruh dunia. Pada cekaman kekeringan, tanaman mengadopsi beberapa modifikasi fisiologis, seperti absisi daun, pengurangan luas timbal, dan serapan hara yang lebih besar oleh akar tanaman. Selanjutnya, penutupan stomata mempengaruhi

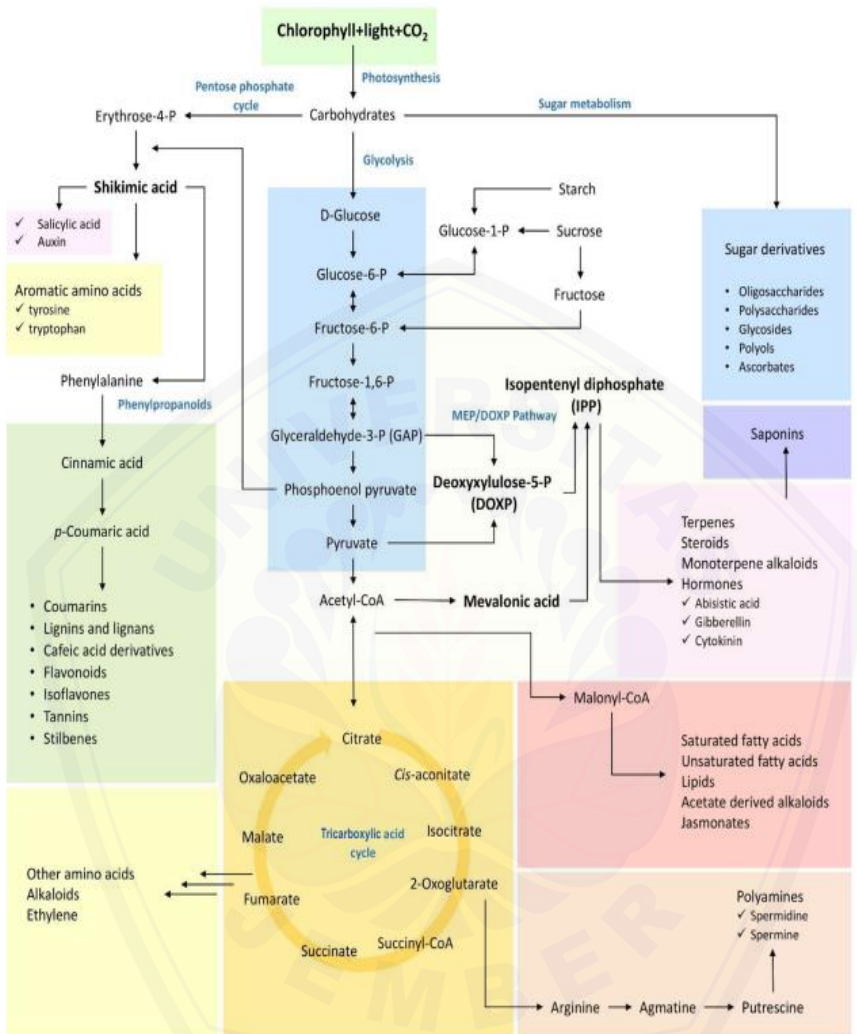
aktivitas transpirasi dan mengurangi kehilangan air. Perubahan fisiologis ini meningkatkan *water use efficiency* (WUE) yang pada akhirnya menghambat aktivitas fotosintesis karena berkurangnya konsentrasi CO₂ dan penutupan stomata [132]. Penyesuaian osmotik, yaitu akumulasi aktif zat terlarut sebagai respons terhadap kekeringan, menghasilkan potensi osmotik yang berkurang dan berkontribusi untuk mempertahankan turgor sel, merupakan mekanisme adaptasi yang penting terhadap defisit air pada beberapa tanaman. Tanaman mensintesis banyak poliamina di mana-mana, seperti spermine, spermidine, dan putrescine, sebagai respons terhadap cekaman kekeringan sebagai mekanisme pertahanan [133].

Analisis metabolik menunjukkan bahwa kekeringan sangat mempengaruhi profil metabolisme, mempengaruhi tingkat 82 metabolit pada berat (61 meningkat dan 21 menurun) dan 78 metabolit pada mutan (46 meningkat dan 32 menurun). Para penulis mengklasifikasikan perubahan profil metabolit ke dalam kategori berdasarkan waktu (fase awal, tengah dan akhir) dan tren variasi sepanjang percobaan perjalanan waktu (sementara atau stabil). Perbandingan profil metabolisme berat dan mutan menyoroti bahwa, di antara total 64 metabolit yang meningkat dehidrasi, 16 diatur oleh jalur yang bergantung pada ABA, termasuk beberapa asam amino, etanolamin, glukosa dan fruktosa, 35 diatur oleh jalur yang tidak bergantung pada ABA, seperti rafinosa dan galaktinol, metabolit yang termasuk dalam siklus TCA dan shunt GABA, dan 13 diatur oleh jalur yang bergantung pada ABA dan tidak bergantung pada ABA, termasuk prolin, agmatin, metionin, lisin, sakaropin, dan fenilalanin.

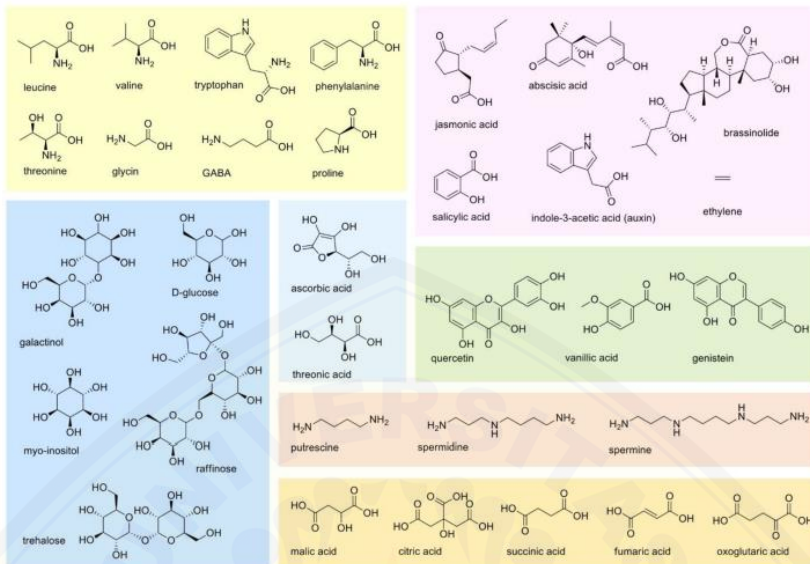
Salah satu mekanisme yang dijelaskan untuk cekaman kekeringan tanaman toleransi adalah produksi dan akumulasi organik zat terlarut. Senyawa ini dapat bertindak sebagai osmolit untuk penyesuaian osmotik dan pemeliharaan turgor di sitosol atau sebagai osmoprotectants untuk menstabilkan komponen selular. Karena itu, regulasi senyawa ini merupakan salah satu yang paling alternatif yang menjanjikan untuk perbaikan kekeringan toleransi pada tanaman kacang-kacangan. Akibatnya, pemahaman yang lebih dalam tentang jalur metabolisme yang menghasilkan osmolit yang

diatur secara umum sangat penting untuk keberhasilan pendekatan pemuliaan tanaman.

Mengingat pentingnya pemahaman yang lebih baik tentang bagaimana legum merespons dan beradaptasi dengan kondisi kekeringan, respons metabolik spesies legum telah dilaporkan dalam beberapa penelitian. Dalam hal ini dan lainnya yang melibatkan berbagai spesies tumbuhan dan tanaman pangan, beberapa metabolit primer dan sekunder utama telah dikaitkan dengan respons kekeringan (Gambar 3 & 4). Untuk itu, platform analitik dan desain eksperimen yang berbeda telah digunakan. Goufo dan kolaborator menggunakan GC-TOF-MS dan LC-DAD untuk profil metabolisme kacang tunggak (*Vigna unguiculata* L. Walp.) ketika mengalami kekeringan (selama 6 atau 12 hari) dan disiram ulang selama 6 hari setelah 6 hari stres. Meskipun kacang tunggak dianggap sebagai tanaman tahan kekeringan untuk menampilkan sifat fisiologis yang diinginkan, kekeringan masih mempengaruhi produktivitasnya. Dengan GC-MS, penulis dapat mengidentifikasi 41 metabolit primer, termasuk 5 gula, 4 poliol, 24 asam amino dan/atau turunannya, dan 8 asam organik. Oleh LC-DAD, 35 puncak ditetapkan berdasarkan fitur spektralnya. Itu termasuk anotasi 15 asam fenolik, 17 flavonoid, dan 3 proanthocyanidins. Oleh karena itu, dengan menggabungkan dua platform analitik pelengkap, tidak hanya metabolit primer yang ditetapkan sebagai penanda resistensi atau bagian dari respons adaptif terhadap cekaman kekeringan tetapi juga metabolit sekunder diindikasikan. Quercetin 3-O-6"-malonylglycoside, kaempferol 3-O-diglycoside, quercetin, galactinol, dan prolin diidentifikasi memiliki respons paling signifikan terhadap kekeringan.



Gambar 3. Representasi skema jalur biosintesis tanaman yang terlibat dalam biosintesis metabolit primer dan sekunder pada tanaman. Beberapa senyawa dan prekursor yang terwakili memiliki konsentrasi yang diubah sebagai respons terhadap tekanan biotik dan abiotik. Pemahaman tentang dinamika dan mekanisme perubahan tersebut, serta fungsi biologisnya, sangat penting untuk mendukung pengembangan kultivar baru yang lebih toleran atau tahan terhadap kondisi lingkungan yang merugikan. Dalam konteks ini, strategi pembuatan profil metabolik adalah alat yang sangat berharga untuk mengakses informasi mengenai perubahan metabolik ini (Gong et al., 2013).



Gambar 4. Metabolit primer dan sekunder yang konsentrasinya diubah pada spesies legum yang mengalami cekaman air. Senyawa representatif diatur sesuai dengan jalur biosintetiknya seperti yang ditunjukkan pada Gambar 3. Dengan warna biru, gula; dalam warna biru muda, antioksidan; dalam warna oranye terang, poliamina; dalam warna kuning cerah, asam amino; dalam warna pink, fitohormon; dalam warna hijau, senyawa fenolik; dalam senyawa turunan TCA asam trikarboksilat berwarna kuning (Rochfort et al., 2015).

Coutinho dan kolaborator menganalisis daun dan akar dari dua kultivar kedelai yang berbeda (satu sensitif dan satu cukup toleran) dengan ^1H NMR dan analisis data multivariat. Analisis pergeseran kimia dan konstanta kopling memungkinkan mereka menetapkan sinyal dari 26 metabolit primer dan 11 metabolit sekunder. Para penulis menunjukkan bahwa alanin, GABA, sukrosa, asetat, sitrat, dan suksinat terakumulasi di akar ketika tanaman terkena banjir. Menariknya, sebagian besar kadar senyawa ini menurun di daun. Akumulasi diferensial metabolit juga dijelaskan untuk dua varietas buncis (*Cicer arietinum* L.), satu toleran dan satu sensitif, keduanya terpapar cekaman kekeringan. Pendekatan profiling metabolik tak bertarget berbasis UPLC-HRMS memungkinkan pemisahan 691 puncak, dari mana 175 diidentifikasi sebagai metabolit yang diketahui, termasuk asam amino, asam

organik, gula, poliamina, senyawa nitrogen, dan polifenol. Prolin, arginin, histitin, isoleusin, dan triptofan sangat terakumulasi dalam daun varietas toleran setelah induksi cekaman kekeringan, sementara senyawa seperti GABA, alanin, asam α -ketoglutarat, kolin, fenilalanin, tirosin, glukosamin, adenosin, guanin, dan asam aspartat menurun pada kedua varietas. Dalam penelitian lain, nodul dari dua varietas kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) dengan toleransi kontras terhadap kekeringan (satu sensitif dan satu lagi toleran) dianalisis dengan GC-MS setelah mengalami cekaman kekeringan. Dari 58 metabolit yang teridentifikasi, asam amino, asam organik, karbohidrat, dan beberapa prekursor menunjukkan perubahan yang signifikan. Benjolan pada kultivar toleran mengakumulasi trehalosa, prolin, dan GABA, sedangkan kultivar sensitif mengalami penurunan kadar asparagin dan glutamin. Selain itu, kultivar ini tidak dapat memulihkan metabolisme seperti tanaman yang diairi dengan baik.

Akhirnya, sebuah studi mengenai proses aklimatisasi kekeringan pada enam spesies Lotus menunjukkan bahwa respon tersebut disertai dengan peningkatan konsentrasi seluler dari banyak metabolit hidrofilik kecil (atau osmolit, seperti asam amino, gula, dan metabolit siklus TCA), yang dapat bervariasi sesuai dengan spesies yang dipelajari. Dalam studi mereka, 198 tag spektral massa dianalisis secara manual dari kumpulan data profil GC-MS, mewakili metabolit yang diketahui dan masih belum diketahui. Dari jumlah tersebut, 90 diubah oleh perlakuan kekeringan (76 meningkat dan 14 menurun). Peningkatan signifikan diamati untuk asam organik (asam suksinat dan malat), gula (fruktosa, glukosa, galaktosa, dan maltosa) dan poliol (arabitol, ononitol, dan galaktitol). Mempertimbangkan asam amino, prolin, leusin, dan isoleusin meningkat, sedangkan serin, glisin, dan treonin menurun. Asparagin, lisin, dan valin tidak menunjukkan perubahan yang signifikan. Akhirnya, penulis menunjukkan bahwa perubahan kuat yang terlibat dalam aklimatisasi lintas genus harus dianalisis menggunakan lebih dari dua spesies/kultivar yang toleran versus sensitif untuk menghindari kesalahpahaman antara variasi alami dan toleransi metabolik.

Profil metabolisme dilakukan untuk enam genotipe gandum di bawah cekaman kekeringan. Genotipe toleran kekeringan ini menghasilkan beberapa metabolit penting, seperti γ -aminobutyric acid (GABA), myo-inositol, treonin, prolin, asam oksalat, asam malat, glukosa, fruktosa, dan sukrosa [134]. Analisis metabolik komparatif dari kultivar gandum yang toleran kekeringan dan rentan menunjukkan akumulasi tingkat tinggi lisin, arginin, metionin, dan prolin dalam menanggapi cekaman kekeringan [135]. Demikian pula, akumulasi linamarin, pipecolate, prolin, dan triptofan juga telah dideteksi oleh analisis metabolomik gandum di bawah cekaman kekeringan dan ini dapat digunakan sebagai biomarker potensial untuk menyaring genotipe toleran kekeringan [136].

Baru-baru ini, profil metabolik berbasis GC-MS dari delapan kultivar gandum dilakukan untuk mengamati mekanisme toleransi kekeringan. Data mengenai kandungan klorofil, konduktansi stomata, kadar air relatif, dan metabolit dari kultivar yang berbeda dicatat. Peningkatan konsentrasi glutamin, serin, metionin, lisin, dan asparagin tercatat di bawah cekaman kekeringan [20]. Pada tahun 2018, Yang dan rekan melakukan profil metabolisme jagung di bawah tekanan kekeringan melalui RP/UPLC-MS, yang menunjukkan peningkatan regulasi metabolisme lipid dan karbohidrat dan percepatan siklus glutathione [14]. Selanjutnya, profil metabolik berbasis LC-MS- dan GC-MS mengkonfirmasi akumulasi diferensial metabolit pada daun muda dan dewasa [137.138]. Dalam studi lain, sidik jari metabolik berbasis GC-MC dari 10 hibrida jagung dilakukan di bawah tekanan kekeringan. Hasilnya mengungkapkan konsentrasi gula yang rendah, seperti eritritol dan maltosa sementara tidak ada perubahan yang diamati pada konsentrasi xylitol dan raffinose selama cekaman kekeringan. Kultivar jagung toleran kekeringan hiperakumulasi GABA, leusin, glisin, serin, alanin, dan triptofan [4]. Peningkatan produksi asam 4-hidroksisimat, asam ferulat, asam stearat dan xylitol dicatat menggunakan alat GC-MS pada padi di bawah kondisi kekeringan [139]. Strategi gabungan analisis metabolisme berbasis GC-TOF-MS telah dilakukan pada beras untuk mempelajari pengaruh cekaman kekeringan pada metabolisme poliamina. Hasil penelitian

menunjukkan regulasi biosintesis poliamina yang terkoordinasi dengan baik, sehingga meningkatkan sintesis spermin untuk mengatur toleransi kekeringan pada padi [140]. Profil metabolisme dari tanaman yang berbeda, seperti gandum, barley, beras, dan kedelai, telah dilakukan untuk menjelaskan metabolit vital yang menawarkan toleransi kekeringan [16,17,141-143].

1.5.1.2 Cekaman Salin

Tingkat salinitas tanah yang lebih tinggi mengakibatkan keracunan ion dan gangguan mekanisme penyerapan ion, menyebabkan sindrom metabolik dan ketidakseimbangan osmotik yang mengarah pada pertumbuhan terhambat dan penangkapan beberapa aktivitas fisiologis [144]. Konsentrasi ion Na^+ yang tidak seimbang menyebabkan keracunan ion, yang menghambat penyerapan hara dan air pada kondisi salinitas tinggi [145]. Tanaman mensintesis banyak metabolit primer dan sekunder untuk mengatasi kondisi cekaman salinitas.

Profil metabolisme benih padi berbasis GC-MS dilakukan di bawah tekanan garam yang membuktikan hiperakumulasi asam amino penting, seperti leusin, isoleusin, valin, dan prolin [15]. Gupta dan rekan melakukan profil metabolik komparatif beras toleran dan sensitif dengan menggunakan teknik GC-TOF-MS. Peningkatan kadar akumulasi asam amino pada genotipe toleran diamati dibandingkan dengan varietas rentan. [146]. Profil metabolik berbasis GC/MS dari akar jelai di bawah kondisi stres garam mengungkapkan peningkatan produksi asam organik, prolin, sukrosa, xilosa, dan maltosa, yang menunjukkan mekanisme toleransi garam dalam jelai [147]. Dalam laporan terbaru, analisis metabolisme beras di bawah tekanan garam menunjukkan peningkatan konsentrasi sukrosa dan manitol, dan kandungan quinate dan shikimate yang lebih rendah, yang memberikan toleransi salinitas pada beras [23]. Modifikasi jalur asam absisat (ABA) dapat mengganggu jalur hormonal lain yang terkait dengan stres garam. Misalnya, jalur jasmonate (JA) adalah jalur hormonal yang sangat penting yang mendapat perhatian saat ini. Dilaporkan bahwa penerapan melati mengurangi kerusakan salinitas pada spesies padi [148]. Selain itu, berbagai alat metabolomik telah

digunakan untuk mempelajari variasi profil metabolisme banyak tanaman pangan, seperti tomat, jagung, barley, dan gandum [129.149.150].

Dua kultivar padi (Arborio dan Nipponbare) telah dikarakterisasi dengan analisis $^1\text{H-NMR}$ untuk mengetahui profil metaboliknya dalam kondisi tekanan osmotik atau tekanan garam pada percobaan *in vitro*. Nipponbare ditemukan lebih toleran terhadap kedua cekaman daripada Arborio, seperti yang ditunjukkan oleh persentase penghambatan pertumbuhan tunas dan akar. Untuk kedua genotipe, plot skor PCA mengelompokkan sampel menjadi tiga kelompok berbeda, tergantung pada kondisi pertumbuhan: bibit yang tidak diberi perlakuan, perlakuan osmotik (PEG 20%) dan perlakuan garam (NaCl 150 mM). Dibandingkan dengan kondisi pertumbuhan kontrol, pucuk kedua kultivar mengakumulasi jumlah glukosa, glutamin, dan glutamat yang lebih tinggi di bawah kedua kondisi stres; di bawah tekanan garam, peningkatan kandungan sukrosa, treonin, valin, dan laktat juga diinduksi.

Meskipun kedua kultivar padi menunjukkan kecenderungan yang sama dalam perubahan metabolisme selama stres, mereka berbeda secara signifikan dalam jumlah relatif beberapa metabolit, yaitu rasio sukrosa/glukosa dan rasio glutamat/asam amino total dan glutamin/asam amino total. Hasil ini menunjukkan bahwa metabolisme gula dan glutamin-glutamat diatur secara berbeda dalam dua kultivar sebagai respons terhadap cekaman abiotik.

Dua kultivar jelai yang berbeda dalam toleransi garamnya, Sahara (lebih toleran) dan Clipper (lebih rentan), dibandingkan untuk profil metabolismenya dalam kondisi normal atau salin dalam percobaan jangka waktu (24 jam, 3 dan 5 minggu). PCA dari metabolit daun memisahkan sampel milik dua kultivar yang tumbuh dalam kondisi apa pun, jaraknya meningkat seiring dengan waktu percobaan untuk sampel kontrol dan perlakuan. Pada kedua kultivar, pemisahan yang jelas antara respon jangka pendek (24 jam) dan jangka panjang (3 dan 5 minggu) juga terlihat. Memang, setelah 24 jam perlakuan garam, hanya sedikit perubahan konsentrasi metabolit yang terdeteksi, sedangkan setelah paparan jangka

panjang (3 dan 5 minggu) sejumlah besar perubahan metabolik dan perubahan yang lebih besar diamati pada kedua kultivar.

1.5.1.3 Cekaman Genangan

Kerusakan utama tanaman akibat banjir tanah adalah kekurangan oksigen, yang berdampak negatif pada respirasi mitokondria. Ketika fosforilasi oksidatif respirasi mitokondria terganggu dalam kondisi anaerobik, produksi adenosin trifosfat (ATP) purnapasaran turun secara substansial. Untuk mengatasi krisis energi, tanaman meningkatkan fluks glikolitik untuk menghasilkan lebih banyak ATP melalui penipisan cadangan gula yang lebih cepat. Dalam kondisi stres seperti itu, tanaman harus menghasilkan ATP yang cukup untuk mempertahankan fungsi seluler dan meregenerasi NAD^+ teroksidasi untuk mempertahankan fluks glikolitik. Piruvat yang terakumulasi dari glikolisis dapat disalurkan melalui jalur fermentasi untuk mengembalikan genangan NAD^+ diperlukan untuk glikolisis.

Fermentasi etanol dan fermentasi laktat adalah dua jalur fermentasi pada tumbuhan yang menggunakan piruvat sebagai substrat. Dalam fermentasi etanol, piruvat didekarboksilasi menjadi asetaldehida melalui piruvat dekarboksilase (PDC) dan kemudian direduksi menjadi etanol melalui alkohol dehidrogenase (ADH) bersamaan dengan oksidasi NADH menjadi NAD^+ . Karena hasil energi yang jauh lebih rendah dari fermentasi etanol (2 mol ATP per mol glukosa yang dikonsumsi), dibandingkan dengan respirasi mitokondria (36-38 mol ATP per mol glukosa yang dikonsumsi), fermentasi etanol harus dilanjutkan dengan laju yang lebih tinggi untuk memenuhi permintaan energi dari fungsi seluler. Akumulasi etanol dan asetaldehida yang mudah menguap dan fitotoksik telah diukur pada berbagai spesies pohon dan rumput yang terpapar banjir. Pada pohon yang tahan banjir, sejumlah besar etanol yang dihasilkan dari fermentasi etanol pada akar yang tergenang dapat diangkut ke daun melalui aliran transpirasi, di mana etanol secara berurutan dioksidasi menjadi asetaldehida dan asetat melalui ADH dan aldehida dehidrogenase pada daun. Asetat diubah menjadi asetil-KoA melalui enzim pengaktif asetat dan masuk kembali ke metabolisme sentral, yang memulihkan karbon yang akan hilang

sebagai etanol dalam jaringan hipoksia. Dalam fermentasi laktat, piruvat direduksi menjadi laktat oleh laktat dehidrogenase bersamaan dengan oksidasi NADH. Karena laktat adalah asam lemah, akumulasinya dapat menyebabkan pengasaman seluler, berpotensi menyebabkan inaktivasi enzim dan kerusakan sel.

Selain penyesuaian metabolisme karbon melalui etanol dan fermentasi laktat, kekurangan oksigen juga sangat mempengaruhi metabolisme nitrogen dalam sel tumbuhan. Alanin adalah salah satu asam amino yang terakumulasi paling dramatis saat kekurangan oksigen. Rute utama untuk akumulasi alanin anaerobik adalah melalui alanin aminotransferase (AlaAT), yang mendukung konversi piruvat dan glutamat menjadi alanin dan 2-oksoglutarat di bawah hipoksia. Bagaimana tanaman meregenerasi glutamat sebagai substrat untuk AlaAT di bawah hipoksia? Aminasi reduktif 2-oksoglutarat melalui sintase glutamat yang bergantung pada NADH (NADH-GOGAT) mungkin bertanggung jawab atas sintesis glutamat yang baru di bawah hipoksia. Aktivitas NADH-GOGAT yang meningkat juga meregenerasi NAD^+ yang diperlukan untuk mempertahankan fluks glikolitik pada defisiensi oksigen. Rute lain untuk akumulasi anaerobik alanin adalah melalui proses yang dikenal sebagai asam γ -aminobutyric (GABA) shunt, di mana GABA turunan glutamat diubah menjadi semialdehida suksinat, secara bersamaan mengubah piruvat menjadi alanin. Akumulasi alanin dan GABA telah diusulkan sebagai mekanisme adaptif di bawah hipoksia untuk menjaga karbon yang akan hilang selama fermentasi etanol dan menyimpan ATP yang akan digunakan sebaliknya untuk mengasimilasi glutamin dan asparagin melalui enzim yang mengkonsumsi ATP. Perubahan banyak asam amino lainnya, seperti aspartat, glutamat, dan tirosin, telah diamati pada beberapa spesies di bawah tekanan banjir. Selain itu, perantara fotorespirasi, seperti serin, glisin, glikolat, dan gliserat, meningkat di akar *Medicago truncatula* di bawah genangan air, menunjukkan tingkat fotorespirasi yang lebih tinggi, mungkin karena konduktansi stomata yang lebih rendah. Siklus TCA beroperasi dalam mode non-siklik setelah kekurangan oksigen. Akumulasi alanin anaerob disertai dengan produksi 2-oksoglutarat, yang dapat memasuki mitokondria untuk membentuk suksinat melalui 2-oksoglutarat

dehidrogenase dan suksinat CoA ligase, menghasilkan ATP tambahan untuk mengurangi kekurangan energi karena keterbatasan oksigen. NAD⁺ mitokondria yang diperlukan untuk mengoksidasi 2-oksoglutarat dihasilkan dengan mereduksi oksaloasetat menjadi malat melalui malat dehidrogenase. Karena enzim siklus TCA suksinat dehidrogenase (SDH) membutuhkan oksigen, akumulasi suksinat khas selama kondisi hipoksia yang disebabkan oleh banjir. Perubahan intermediet siklus TCA lainnya, seperti sitrat, malat, dan fumarat, telah terjadi pada beberapa spesies di bawah tekanan banjir.

Genangan air adalah jenis lain dari cekaman abiotik yang menghambat pertumbuhan dan hasil tanaman. Genangan air menyebabkan luka parah pada tanaman karena terbatasnya pasokan CO₂ dan oksigen, yang pada akhirnya menghambat proses fotosintesis. Genangan air dalam waktu lama menyebabkan hipoksia yang berdampak langsung pada akar dan menghambat asimilasi CO₂. Transduksi sinyal, perubahan metabolisme, dan perubahan morfologi adalah tiga adaptasi terhadap cekaman genangan air [151]. Profil metabolomik kedelai berbasis NMR menunjukkan korelasi negatif antara cekaman genangan air dengan sintesis metabolit primer dan sekunder [152]. Dalam percobaan lain, profil metabolik ujung akar kedelai di bawah genangan air dilakukan dengan elektroforesis kapiler MS yang mengungkap 73 metabolit. Konsentrasi fosfoenolpiruvat, *nicotinamide adenine dinucleotide* (NADH₂), glisin, dan asam gamma-aminobutirat meningkat pada kondisi genangan air [22]. Herzog dan rekan menggunakan GC/MS dan LC/MS untuk mempelajari mekanisme toleransi perendaman dalam dua kultivar gandum, mengidentifikasi lisin, prolin, metionin, dan triptofan sebagai biomarker penting untuk toleransi genangan air [153]. Dalam percobaan lain, ketahanan kultivar padi yang berbeda di bawah tekanan perendaman diselidiki melalui profil metabolik. Dalam penelitian ini, alat metabolisme terintegrasi berbasis NMR dan GC/MS mendeteksi beberapa metabolit unik, termasuk 6-fosfoglukonat, fenilalanin, dan laktat, yang memungkinkan tanaman padi mentolerir kondisi cekaman genangan air [154].

1.5.1.4 Cekaman Suhu

Tanaman membutuhkan suhu optimal untuk pertumbuhan dan perkembangan normalnya. Fluktuasi suhu dapat menyebabkan kerusakan parah dan menghentikan proses perkembangan. Suhu tinggi mengganggu homeostasis dan mekanisme fisiologis lainnya [25,155]. Tanaman mensintesis banyak metabolit sekunder di bawah tekanan panas, seperti rhamnose, putrescine, myoinositol, asam 2-ketoisocaproic, asam arakidik, allantoin, dan alanin [155]. Metabolomik gandum yang tidak ditargetkan dilakukan dengan menggunakan LC-HRMS di bawah tekanan panas. Profil metabolik menunjukkan peningkatan signifikan dalam sintesis metabolit, seperti pipekolat dan L-triptofan, di bawah tekanan panas. Selain itu, stres panas mempengaruhi biosintesis metabolit sekunder dan biosintesis aminoasil-tRNA [25]. Profil metabolik dari biji-bijian menggunakan teknologi LC-MS/MS-HPLC menunjukkan konsentrasi sukrosa dan G1p yang lebih tinggi di bawah tekanan panas [156]. Analisis metabolomik komparatif dilakukan untuk toleran panas dan -kultivar kedelai yang rentan. Genotipe yang tahan panas mensintesis karbohidrat dengan konsentrasi yang lebih tinggi, termasuk 1,3-dihidroksiaseton, ribosa, dan glikolat, dibandingkan dengan genotipe yang rentan. Jenis toleran ini juga menghasilkan konsentrasi rendah dari banyak metabolit, seperti chiro-inositol, pinitol, erythritol, dan arabitol [157]. Analisis metabolisme juga dilakukan untuk tanaman penting lainnya, seperti tomat, jagung, dan gandum, untuk mengamati efek stres panas [158-160].

Stres dingin merusak perkembangan tanaman, mengurangi pertumbuhan dan perkembangan tanaman, dan menyebabkan kerugian ekonomi tanaman. Stres dingin dapat menyebabkan berbagai gejala tanaman, termasuk perkecambahan yang buruk, bibit kerdil, daun menguning, berkurangnya ekspansi dan layu daun, dan kerusakan membran parah yang disebabkan oleh dehidrasi akut yang terkait dengan pembentukan kristal es. Basis molekuler dan mekanisme regulasi untuk respon cekaman dingin tanaman telah dipelajari secara luas, termasuk Ca^{2+} fluks, inositol fosfat, kaskade yang dimediasi protein teraktivasi mitogen (MAP)-kinase, protein kinase yang bergantung Ca , dan banyak faktor

transkripsi. Inducer of CBF Expression-1 (ICE1) dan C-repeat-binding factors (CBFs) adalah transkrip dengan karakteristik terbaik yang mengontrol regulasi penting gen target yang mencakup banyak gen inti hilir. Sekitar 10-15% dari semua gen yang diatur dingin diaktifkan oleh aktivator transkripsional faktor pengikat berulang C/faktor pengikat elemen responsif dehidrasi (CBF1/DREB1b, CBF2/DREB1c, CBF3/DREB1a).

Stres dingin mengatur GABA dan akumulasi prolin, rafinosa, dan galaktinol. Transkrip yang diinduksi stres dingin untuk gen yang mengkode enzim yang terlibat dalam induksi callose, fermentasi, fosfolipid, pati, gula, flavonoid, asam amino protein, GABA, dan biosintesis terpenoid, dan represi fotorespirasi, asam folat, betaine, asimilasi sulfat, etilen, asam lemak, glukoneogenesis, asam amino, brassinosteroid, dan biosintesis klorofil. Respons metabolisme terhadap stres dingin telah dipelajari secara luas di *Arabidopsis thaliana* secara tradisional dan baru-baru ini diperluas ke tanaman, rumput, dan tanaman obat. Stres dingin ditemukan menyebabkan lebih banyak perubahan pada tingkat metabolit daripada stres panas. Stres dingin menyebabkan peningkatan berbagai metabolit, termasuk prolin, GABA, gula larut (misalnya, glukosa, fruktosa, inositol, galaktinol, rafinosa, sukrosa, dan trehalosa), askorbat, putresin, sitrulin, intermediet siklus TCA, poliamina, dan lipid. Tanaman di bawah cekaman dingin menunjukkan peningkatan proporsi asam lemak tak jenuh untuk menstabilkan membran dan mempertahankan fluiditas membran terhadap cedera beku.

Stres panas dapat mengganggu fisiologi tanaman dengan mengurangi stabilitas membran dan menghambat respirasi dan fotosintesis. Stres panas dan dingin memiliki banyak respons yang sama, termasuk induksi osmolit yang berfungsi untuk mengurangi dehidrasi sel, zat terlarut yang kompatibel yang penting untuk menstabilkan enzim dan membran, zat pengkkelat yang dapat menetralkan logam dan ion anorganik, dan sumber energi. Tanaman di bawah sengatan panas dan pemanasan yang berkepanjangan menunjukkan respons yang berbeda. Menanggapi sengatan panas, tanaman menghasilkan protein kejutan panas (HSP) yang berfungsi sebagai pendamping molekuler untuk mempertahankan diri dari

tekanan panas. Respon heat-shock diatur oleh faktor transkripsi keluarga HSF. Bagian dari gen yang terpengaruh sengatan panas dikendalikan oleh dua gen HSF utama, HsfA1a dan HsfA1b. HsfA1a/1b mengatur gen yang mengkode enzim yang terlibat dalam pensinyalan, proses transportasi, dan biosintesis osmolit.

Beberapa studi metabolomik telah mengungkapkan dampak kejutan panas pada metabolisme pusat tanaman, termasuk asam amino, asam organik, amina, dan karbohidrat. Asam amino yang berasal dari oksaloasetat dan piruvat (asparagin, leusin, isoleusin, treonin, alanin, dan valin), prekursor oksaloasetat (fumarat dan malat), metabolit yang mengandung amina (β -alanin dan GABA), dan karbohidrat (maltosa, sukrosa, trehalosa, galactinol, myo-inositol, raffinose, dan prekursor dinding sel monosakarida) dilaporkan meningkat sebagai respons terhadap sengatan panas. Peningkatan asam amino bebas selama tekanan panas dikaitkan dengan pemecahan protein.

Peningkatan intermediet siklus TCA di bawah tekanan panas menunjukkan bahwa jumlah Koenzim A yang lebih tinggi mungkin penting untuk peningkatan biosintetik dan kebutuhan energi. Induksi jalur biosintesis rafinosa dan akumulasi galaktinol dan rafinosa selama kejutan panas dimediasi oleh galaktinol sintase-1 (GolS1) yang dikendalikan oleh HSFs. Berbeda dengan sengatan panas jangka pendek, tanaman yang terkena pemanasan berkepanjangan meningkatkan jalur glikolisis tetapi menghambat siklus TCA. Gandum (*Triticum aestivum*), di bawah pemanasan yang berkepanjangan, menunjukkan peningkatan triptofan. Sitokinin (CKs), metabolisme asam lemak, flavonoid, biosintesis terpenoid, dan biosintesis metabolit sekunder diidentifikasi sebagai jalur paling penting yang terlibat dalam respons pemanasan berkepanjangan.

1.5.1.5 Cekaman Logam Berat

Cekaman logam berat merupakan cekaman abiotik lain yang menjadi faktor sangat penting yang mempengaruhi hasil tanaman. Ini mendorong beberapa sinyal pada tanaman, menuju variasi mekanisme biokimia, molekuler, dan fisiologis yang kompleks. Elemen jejak, seperti kobalt Co, W, V, Cr, Zn, Ni, dan Cu, dianggap

mematikan bagi tanaman pada konsentrasi yang lebih tinggi [43]. Logam, seperti krom (Cr), nikel (Ni), seng (Zn), timbal (Pb), sesium (Cs), dan kadmium (Cd), dianggap sebagai polutan utama yang mempengaruhi stres tanaman. Stres logam memaksakan keterbelakangan metabolisme, oksidasi seluler, dan penghambatan enzim yang mengakibatkan terhentinya pertumbuhan dan bahkan kematian sel dalam konsentrasi yang lebih tinggi [161]. Demikian pula, tembaga (Cu), mangan (Mn), dan besi (Fe) sangat penting untuk pertumbuhan tanaman dalam banyak hal karena pentingnya mereka dalam berbagai proses biologis. Reproduksi, metabolisme, dan pertumbuhan tanaman sangat dipengaruhi oleh logam berat. Untuk mengatasi cekaman logam berat, tanaman memerlukan sinkronisasi biokimia dan fisiologis multidimensi, stabilisasi struktur protein, dan modifikasi di seluruh metabolisme untuk mengembangkan toleransi cekaman logam. Analisis metabolik kacang menunjukkan peningkatan konsentrasi karbohidrat di bawah perlakuan Zn dan Cu yang lebih tinggi [162]. Stres logam berat menyebabkan hiperakumulasi metabolit di *Brassica rapa*, seperti yang ditunjukkan oleh analisis metabolomik berbasis ¹H-NMR, 2D-J [163]. Demikian pula, profil metabolisme yang dimediasi CapHPLC-ESI-QTOF-MS dari akar dan daun bunga matahari menunjukkan peningkatan produksi jenis asam lemak khusus di bawah tekanan logam Cr [161].

Merkuri (Hg) digunakan dalam jumlah yang signifikan dalam disinfektan benih, pupuk, dan herbisida dalam produksi pertanian. Di tanah pertanian, merkuri ada dalam bentuk ioniknya (Hg²⁺) dan diserap ke sulfida, bahan organik dan partikel tanah liat. Merkuri dapat mengerahkan fitotoksitas melalui kemampuannya untuk mengubah permeabilitas membran sel, afinitasnya yang tinggi untuk bereaksi dengan gugus sulfhidril, reaksinya dengan gugus fosfat dalam hal afinitas, substitusi ion esensial, dan gangguan fungsinya yang melibatkan protein kritis atau nonprotektif. Beberapa peneliti menemukan bahwa stres Hg memiliki efek signifikan pada sistem antioksidan enzimatis (termasuk SOD, POD, CAT dan APX) akar padi dan penipisan glutathione yang cepat. Hg juga diketahui menyebabkan peningkatan peroksidasi lipid dan mengganggu ultrastruktur seluler bibit gandum, dan hasil analisis

proteomik mereka menunjukkan bahwa asam absisat (ABA) melindungi tanaman dari tekanan Hg dan meningkatkan aktivitas peroksidase. Namun, studi metabolomik pada tanaman di bawah tekanan Hg masih kurang. Claudia Cosio dan David Renault melaporkan bahwa Hg anorganik terutama berdampak pada kompartemen yang dapat larut, sedangkan metil-Hg terutama berdampak pada kompartemen yang tidak larut. Dan kandungan fenilalanin, treonin, dan triptofan meningkat pada pucuk *Elodea nuttallii* di bawah cekaman Hg. Pemahaman yang lebih baik tentang efek Hg pada metabolisme tanaman akan berkontribusi pada pemahaman yang lebih komprehensif tentang respons molekuler dan fisiologis tanaman terhadap kontaminasi Hg.

Tembaga (Cu) terlibat dalam berbagai jenis proses metabolisme (termasuk fotosintesis) selama pertumbuhan tanaman dan merupakan bagian penting dari enzim antioksidan (termasuk SOD dan oksidase askorbat). Produksi industri dan emisi kendaraan menghasilkan debu yang mengandung tembaga berbahaya dalam jumlah besar, yang masuk ke dalam tanah melalui pengendapan alami. Selain itu, penggunaan berlebihan fungisida yang mengandung tembaga dan aditif pakan dalam kegiatan pertanian telah secara dramatis meningkatkan kadar tembaga di tanah pertanian. Kadar Cu tinggi (lebih dari 250 mmol L⁻¹) dapat menyebabkan stres oksidatif pada tanaman, mengganggu struktur dan fungsi membran selnya dan menyebabkan klorosis dan nekrosis tanaman. Guoyong Huang dkk. melaporkan bahwa biomassa jarak menunjukkan penurunan yang signifikan ketika konsentrasi Cu lebih besar dari 250 mmol L⁻¹. Dan kandungan tartarat, asam malat, dan suksinat meningkat secara signifikan dengan kelebihan Cu. Zhao dkk. menemukan bahwa Cu dapat menginduksi akumulasi asam treonat, tirosin, fenilalanin dan polifenol dalam mentimun. Beberapa asam organik (asam suksinat, asam gliserat, dan prolin) dan asam amino (asam glutamat, serin, asam aspartat, dan treonin) dapat membantu mendetoksifikasi kelebihan Cu²⁺ pada *Celosia argentea*.

Pada tumbuhan, seng (Zn) merupakan konstituen dari banyak enzim dan penting untuk proses seperti sintesis protein, karbohidrat metabolisme, disipasi energi, pembelahan sel, dan

ekspresi gen. Dalam beberapa tahun terakhir, pesatnya ekspansi penambangan, peleburan dan galvanisasi seng telah menyebabkan akumulasi dan kontaminasi seng yang berlebihan di dalam tanah. Penyerapan kelebihan Zn dalam tanah oleh tanaman merusak sel-selnya dan akhirnya menghambat pertumbuhannya. Tingkat ion seng intraseluler yang tinggi (lebih dari 5 mg L^{-1}) menyebabkan degradasi protein, menghambat sintesis protein baru, dan mengganggu membran sel dan struktur kloroplas. Yinfei Zhang dkk. Melaporkan bahwa kelebihan Zn bisa mempengaruhi metabolisme flavonoid, sedangkan defisiensi Zn dapat mempengaruhi metabolisme karbohidrat. Dan kandungan metabolit flavonoid (misalnya catechin gallate, epicatechin, dan epigallocatechin) meningkat secara signifikan pada daun teh di bawah tekanan Zn.

Sebagai elemen penting untuk perkembangan tanaman, besi (Fe) merupakan komponen penting dari sitokrom tanaman serta enzim dan memainkan peran yang sangat diperlukan dalam replikasi DNA, sintesis klorofil, pemulungan oksigen aktif dan transfer elektron. Ion besi kurang larut dalam tanah basa, dan keracunan besi tanaman sehingga sering terjadi pada sulfat asam dan tanah liat asam. Penyerapan ion besi yang berlebihan oleh tanaman dapat menyebabkan produksi radikal hidroksil pengoksidasi kuat ($\text{Fe}^{2+} \text{p } \text{H}_2\text{O}_2 / \text{Fe}^{3+} \text{p } \text{OH} \text{p } \text{OH}$), yang merusak sistem membran sel, mengakibatkan kematian sel tanaman. Selain itu, perlakuan cekaman Fe (lebih dari 400 ppm) dapat menghambat pertumbuhan akar dan pucuk tanaman serta menyebabkan bronzing daun. Turhadi Turhadi dkk. melaporkan bahwa asam linolenat (menurun), asam linoleat (menurun) dan asam elaidat (meningkat) dapat menjadi metabolit penanda untuk respon beras terhadap stres Fe.

Timbal (Pb) merupakan logam berat berbahaya yang mencemari tanah dan badan air dan dipancarkan dari peleburan bijih, baterai, knalpot mobil, pembakaran batu bara dan cat. Peningkatan jumlah Pb dalam tanah berdampak buruk terhadap keragaman mikroba tanah dan pertumbuhan serta metabolisme tanaman. Setelah paparan Pb, tanaman mengalami stres oksidatif yang menyebabkan cedera seluler dan gangguan homeostasis ion seluler. Timbal merusak pertumbuhan tanaman, perkembangan

bibit, pemanjangan akar, perkecambahan biji, transpirasi, pembelahan sel, produksi klorofil, dan jaringan berlapis kloroplas. Venkataramana R. Pidatala dkk. menemukan bahwa kadar asam organik, asam amino dan koenzim, termasuk asparagin (sekitar 3 kali lipat), prolin (sekitar 40 kali lipat), histidin (sekitar 17 kali lipat), triptofan (sekitar 35 kali lipat), valin (sekitar 22 kali lipat), isoleusin (sekitar 6,5 kali lipat), treonin (sekitar 7 kali lipat), nikotinamid (sekitar 133 kali lipat) dan metionin (sekitar 5 kali lipat), meningkat pada akar wangi di bawah tekanan P. Namun, Wang et al. menemukan bahwa kandungan Pb yang tinggi menekan sintesis asam amino pada akar lobak. Selain itu, fruktosa, glukosa dan isokaproat meningkat dan sukrosa, sitrat dan malat menurun pada akar halofit *Suaeda salsa* di bawah tekanan Pb. Kemampuan tanaman untuk mensintesis lebih banyak asam amino dan asam organik di bawah tekanan logam berat membantu meningkatkan toleransinya. Selain itu, banyak enzim kunci (yang ada dalam siklus TCA dan glikolisis) terkena dampak kritis, memicu serangkaian respons pertahanan (thioredoxin, glutaredoxin, aldose 1-epimerase malate dehydrogenase dan siklus ascorbateglutathione) untuk mengurangi kerusakan di bawah tekanan Pb.

1.5.1.6 Defisiensi Nutrisi

Untuk dapat tumbuh dan berkembang dengan normal, tanaman perlu unsur hara esensial dalam konsentrasi yang optimum. Molekul dan metabolit organik dibangun dari unit struktural, seperti karbon, fosfor, belerang, dan nitrogen, dalam sel tumbuhan. Kekurangan unsur hara ini secara langsung mempengaruhi pertumbuhan, metabolisme, dan fisiologi tanaman. Nitrogen (N) dianggap sebagai unsur paling vital di alam karena merupakan unit struktural dasar untuk metabolit seluler, seperti asam nukleat, asam amino, dan protein, serta untuk banyak metabolit sekunder [164]. Tanaman mensintesis metabolit, seperti treonat, gliserat, inositol, dan beberapa karbohidrat larut, di bawah pasokan nitrogen yang terbatas [165]. Khan dan rekan melakukan profil metabolomik gandum berdasarkan teknologi GC-MS dan LC/MS. Mereka melaporkan produksi yang lebih tinggi dari tirosin, lisin, allo-inositol, dan asam L-askorbat dalam gandum di bawah

tekanan N [11]. Demikian pula, konsentrasi fruktosa, ribulosa, dan likosa yang lebih tinggi diamati dalam analisis metabolom gandum melalui teknik terintegrasi GC-TOF-MS di bawah tekanan N. [166]. Sidik jari metabolik telah dilakukan pada tomat (*Solanum lycopersicum* L.) dengan defisiensi N dan fosfor (P). Diamati bahwa stres N mengurangi konsentrasi asam organik dan asam amino sambil memicu sintesis gula larut [8]. Makronutrien terpenting kedua, belerang (S), merupakan prasyarat untuk sintesis banyak metabolit penting dan asam amino yang mengandung belerang sebagai unit struktural [167]. Baru-baru ini, Ghosson dan rekan menerapkan platform metabolomik yang dimediasi UHPLC untuk mempelajari efek stres S pada akar dan daun jelai. Asam amino yang berbeda, asam organik, dan metabolit S-responsif disintesis karena stres nutrisi [168]. P penting untuk sintesis DNA, RNA, ATP, dan berbagai metabolit yang terlibat dalam metabolisme energi [169]. Profil metabolisme jelai yang terkena defisiensi P menunjukkan bahwa tanaman menghasilkan di- dan trisakarida sementara konsentrasi banyak asam organik dan zat antara yang mengandung P berkurang [170]. Demikian pula, sidik jari metabolik dari kacang umum dilakukan untuk mempelajari pengaruh stres P pada nodul dan akar [171] dan N rendah dalam gandum [172].

Tabel 3. Aplikasi terbaru dari platform metabolomik untuk menguraikan toleransi stres abiotik dan biotik pada tanaman utama (Razzaq et al., 2019).

| Tanaman | Kondisi | Alat Analisis | Bahan | Produksi Metabolit |
|---------|----------------|---------------|------------------|--|
| Maize | Drought stress | RP/UPLC-MS | Immature kernels | Siklus metabolisme lipid, carbohydrates and glutathione |
| Maize | Drought stress | GC-TOF-MS | Multiple Tissues | Adenine, phenylalanine, isoleucine, succinic acid, pyruvic acid, alanine, proline and xylose |
| Maize | Drought stress | GC/MS | Leaf blades | Myoinositol and glycine |

| Tanaman | Kondisi | Alat Analisis | Bahan | Produksi Metabolit |
|---------|----------------|---------------|------------------|--|
| Wheat | Drought stress | GC-MS | Roots and leaves | Malic acid, fumaric acid, citric acid, valine and tryptophan |
| Wheat | Drought stress | GC/MS | Flag leaves | Glutamine, serine, methionine, lysine and asparagine |
| Wheat | Drought stress | GC-TOF-MS | Shoots | Malic acid, mannose, fructose, sucrose and proline |
| Rice | Drought stress | GC-MS | Leaves | 4-hydroxycinnamic acid, ferulic acid, stearic acid and xylitol |
| Rice | Drought stress | GC/EI-TOF-MS | Leaf | Glutamate, proline, GABA, arginine and spermidine |
| Rice | Drought stress | GC/MS | Leaf blades | Serine, threonine and asparagine |
| Rice | Salt stress | GC/MS | Leaf | proline and GABA |
| Rice | Salt stress | GC/MS | Leaf | Mannitol and sucrose |
| Rice | Salt stress | NMR | Leaf | Acetic acid, GABA, sucrose and non-polar metabolites |
| Wheat | Waterlogging | GC/MS | Shoot | Lysine, proline |
| Rice | Waterlogging | GC | Leaf | Glycine, alanine |
| Soybean | Waterlogging | NMR | Leaf | Isoflavones and kaempferol |
| Wheat | Heat stress | LC-HRMS | Flag leaves | Pipecolate and L-tryptophan |

| Tanaman | Kondisi | Alat Analisis | Bahan | Produksi Metabolit |
|---------|--------------|---------------|------------------|---|
| Tomato | Heat stress | GC-MS | Fruit pericarp | Rhamnose, putrescine, myoinositol |
| Soybean | Heat stress | LC-MS | Seed | genistein, glycitein and apigenin |
| Wheat | Low-nitrogen | UPLC-QTOF | Flag leaf | iso-orientin and iso-vitexin |
| Canola | Metal stress | NMR | Roots and leaves | Hydroxycinnamic acids |
| Soybean | Metal stress | UPLC | Roots and leaves | Citric acid, D-glucarate, gluconic, L-nicotine, and flavonoids/isoflavone |

1.5.2 Toleransi Cekaman Biotik

Profil metabolisme menentukan perubahan penting dalam metabolit primer dan sekunder tanaman karena serangan patogen apapun [173]. Tanaman mengadopsi berbagai strategi untuk memicu jalur pertahanan terhadap serangan patogen. Kehadiran metabolit yang sangat beragam dalam sel tumbuhan membuat sulit untuk memecahkan kode seluruh metabolom spesies tumbuhan [174]. Tanaman telah mengakumulasi beberapa metabolit sebagai respons terhadap cekaman biotik yang spesifik jaringan dan spesies dan bertindak sebagai biomarker untuk mengatur ketahanan cekaman biotik pada berbagai spesies tanaman [175]. Profil metabolisme menunjukkan akumulasi benzoxazinoid (BXs) di rumput. BXs adalah metabolit sekunder penting yang berfungsi sebagai mekanisme pertahanan terhadap stres biotik. Pada jagung, BXs telah terdeteksi dalam konsentrasi besar [176]. Selain itu, asosiasi tanaman-mikroba juga dapat menghasilkan resistensi terhadap serangan patogen dengan menginduksi beberapa mekanisme molekuler terkait. Ini termasuk biosintesis metabolit tanaman kompleks dan pensinyalan sistematisnya di dalam sel. Metabolit ini

telah diisolasi dari tanaman model, *Arabidopsis thaliana*, dan diselidiki untuk kemampuan tahan mereka di jelai. Hasilnya menunjukkan peningkatan ketahanan penyakit pada jelai dibandingkan dengan kultivar liar [177]. Profil metabolik komparatif tanaman yang terinfeksi dan sehat mengidentifikasi jaringan metabolisme kompleks yang terkait dengan interaksi tanaman-patogen [178]. Fenilpropanoid merupakan komponen vital lignin, yang merupakan unit dasar dinding sel, dan tanaman merespon serangan patogen dengan memodifikasi komposisi dinding sel dan arsitektur akar. Dinding sel yang tebal dapat membantu melindungi tanaman dari serangan patogen. Peningkatan sintesis asam fenolik dan fenilpropanoid diamati pada gandum di bawah serangan *Fusarium graminearum* [179].

Baru-baru ini, Seybold dan rekan menganalisis metabolome gandum untuk menjelaskan mekanisme responsif stres terhadap *Zymoseptoria tritici*. Profil mikrobioma dan metabolomik komparatif dilakukan melalui FT-ICR-MS untuk mendeteksi metabolit yang berhubungan dengan kekebalan dan pertahanan pada kultivar gandum yang resisten dan rentan [26]. Metabolom gandum dipelajari untuk menemukan biomarker unik terhadap *Fusarium graminearum*. Analisis metabolik berbasis NMR menunjukkan akumulasi yang lebih tinggi dari beberapa biomarker tahan penyakit, seperti trehalosa, asparagin, fenilalanin, myoinositol, 3-hidroksibutarat, dan L-alanin [21]. Demikian juga, dalam upaya untuk mengidentifikasi biomarker tahan penyakit lainnya dalam gandum terhadap *Fusarium graminearum*, analisis metabolik dilakukan melalui NMR dan mengungkapkan peningkatan produksi spermine, putrescine, GABA, inositols, galaktosa, dan asam laktat [180]. Analisis metabolomik komparatif telah dilakukan untuk mempelajari metabolom gandum varietas tahan dan rentan yang terinfeksi oleh virus mosaik gandum. UPLC-QTOF/MS digunakan untuk profil metabolik dan menunjukkan pengurangan beberapa sinyal metabolit, yang akhirnya menonaktifkan sinyal virus mosaik gandum [41].

Pada tahun 2016, Suharti dkk melakukan analisis metabolomik melalui platform CE/TOF-MS untuk mengetahui respon ketahanan kultivar padi terhadap serangan *Rhizoctonia*

solani. Asam jasmonat, asam mukus, dan asam gliserat disintesis dalam konsentrasi yang lebih besar sebagai respons terhadap infeksi jamur [42]. Profil metabolik berbasis alat GC-MS dari tiga kultivar padi yang diserang oleh hama empedu menunjukkan peningkatan kadar fenilalanin dan glutamin dengan akumulasi asam linoleat yang tinggi pada varietas tahan [181]. Studi lain melaporkan hiperakumulasi lipid, karbohidrat, alkaloid, xantofil, dan asetofenon pada *Xanthomonas oryzae* pv. kultivar padi tahan *oryzae* (Xoo) [182]. Alat metabolisme berbasis LC-MS, GC-MS, dan NMR telah digunakan untuk memeriksa profil metabolisme padi yang terinfeksi *Magnaporthe grisea*, yang merupakan salah satu hama paling merusak padi. Analisis metabolisme menunjukkan bahwa variasi yang signifikan telah diinduksi oleh *M. grisea* dalam profil metabolisme beras [183]. Analisis metabolomik jagung dilakukan untuk menyelidiki mekanisme yang mendasari resistensi terhadap *Fusarium graminearum* dan mengidentifikasi dua metabolit, seperti smiglaside dan smilaside, yang mungkin terkait dengan resistensi terhadap serangan jamur [24]. Dalam percobaan lain, teknik FT-IR dan NMR digunakan untuk mempelajari mekanisme tahan penyakit yang terkena serangan hawar daun jagung selatan. Profil metabolik menunjukkan adanya lignin, flavonoid, dan polifenol yang memberikan resistensi terhadap patogen [184].

Ostrinia furnacalis adalah salah satu serangga yang paling merusak jagung dan menyebabkan penurunan hasil secara besar-besaran jagung komersial dalam skala besar. Analisis metabolisme mengungkapkan produksi yang lebih tinggi dari volatil, phtohormones, dan benzoxzinoids, dan upregulation dari banyak jalur metabolisme yang berhubungan dengan resistensi penyakit pada jagung [185]. Interaksi antara serangga dan tumbuhan herbivora bersifat multidimensi dan kompleks. *Nilaparvata lugens* adalah serangga hama perusak padi dan menawarkan sistem yang ideal untuk mempelajari interaksi tanaman-serangga. Profil metabolik melalui GC/MS dilakukan untuk mempelajari fluks metabolik sebagai respons terhadap serangan serangga dan menunjukkan peningkatan sintesis GABA dan gliksilat, yang menawarkan ketahanan terhadap wereng batang coklat [186]. Dalam studi lain, analisis metabolomik beras dilakukan untuk mempelajari

resistensi terhadap *Chilo suppressalis* dan resistensi kutu pada gandum [187.188]. Gulma juga dianggap sebagai hama perusak bagi penurunan hasil panen. Ekstrak pucuk dan akar diperiksa untuk mempelajari sifat alelopati metabolit kanola yang menghambat perkembangan akar dan pucuk ryegrass. Analisis metabolisme mendeteksi beberapa senyawa alelopati yang berguna, seperti 3,5,6,7,8-pentahidroksi flavon, asam p-hidroksibenzoat, dan sinapil alkohol, yang memainkan peran penting terhadap ryegrass [189]. Analisis metabolomik yang ditargetkan melalui LC-MS/MS Q Trap dilakukan untuk menyelidiki metabolit unik untuk penekanan gulma pada genotipe gandum yang berbeda [190.191]. Demikian pula, profil metabolik dilakukan untuk menguraikan metabolit penekan gulma dalam kacang-kacangan tahunan yang berbeda. Teknik berbasis UHPLC QTOF-MS dijalankan dan menemukan banyak flavonoid yang dapat digunakan untuk menekan gulma yang berbeda [192].

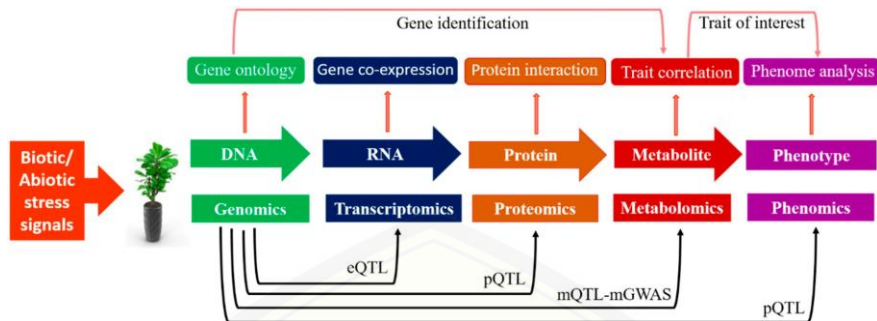
1.5.3 *Metabolomik Tanah*

Metabolomik tanah adalah aplikasi penting lainnya dari metabolomik untuk perbaikan tanaman. Tanah terdiri dari senyawa organik/anorganik serta berbagai populasi mikroba, hubungan yang secara signifikan diuraikan sebagai metabolomik tanah. Hubungan antara produksi tanaman dan metabolisme tanah merupakan bidang yang sangat menarik karena keragaman dan komposisi mikroba tanah mempengaruhi produksi tanaman. Analisis metabolik yang tepat dari populasi mikroba tanah dalam metabolom tanah dan hubungannya dengan sintesis metabolit yang beragam sangat penting untuk meningkatkan pemahaman kita dan memungkinkan eksplorasi jalan baru dalam penyelidikan mikrobioma tanah [193]. Profil metabolik sampel tanah dari rizosfer gandum dilakukan dan banyak metabolit bioaktif, seperti glutarimida, consabatine, methylpyrrole, asam arakidonat, asam giberelat, dan diacetylylcoptamine, terdeteksi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa metabolit biotik unik ini terlibat dalam banyak jalur pensinyalan tanah-tanaman dan menyediakan mekanisme pertahanan terhadap patogen [194]. Analisis metabolomik tanah dilakukan untuk mengidentifikasi tanah penekan untuk produksi

serealia. Alat LC/MS dan ^1H NMR diterapkan untuk profil metabolik tanah dari tanah yang menekan penyakit. Sebuah biomarker unik, makrokarpal terdeteksi untuk tanah yang menekan *Rhizoctonia solani* [195]. Demikian pula, profil metabolisme tanah berbasis NMR dilakukan untuk membedakan tanah penekan dan non-penekan untuk ketahanan penyakit [196].

1.6 Metabolomik Dalam Pemuliaan Tanaman

Selama dekade terakhir, metabolomik telah merasakan perkembangan luar biasa baik dalam desain perangkat lunak maupun kemajuan instrumentasi, memberikan peluang yang sangat baik untuk memindai seluruh metabolom berbagai spesies tanaman dengan cara throughput tinggi. Aplikasi metabolomik telah membantu banyak bidang penelitian, terutama bioteknologi, seperti pemuliaan tanaman presisi, genomik fungsional, dan diagnostik penyakit [197]. Lebih lanjut, penerapannya membuat jalan ke depan untuk metabolomik translasi dalam pemuliaan tanaman. Kemajuan terbaru dalam pendekatan pasca-genomik telah mempercepat proses penyaringan, dan integrasi metabolomik dengan alat throughput tinggi lainnya akan mengurangi waktu yang dibutuhkan untuk mengembangkan varietas tanaman elit dengan toleransi yang lebih baik terhadap cekaman abiotik dan biotik. Metabolomik memiliki potensi besar untuk memberikan pemeriksaan holistik dari berbagai diagnosis metabolit dan fenotipe tanaman [198]. Sekitar 840 unit metabolit telah terdeteksi di 524 kultivar padi, yang memiliki potensi untuk dieksploitasi dalam strategi pemuliaan tanaman di masa depan [199]. Karena kumpulan data holistik transkriptomik, proteomik, dan metabolomik tersedia, para ilmuwan menerapkan teknik ini dalam *epigenomic QTL* (eQTL), *proteomic QTL* (pQTL), dan *metabolic QTL* (mQTL), masing-masing, untuk pemetaan sifat kuantitatif dan membedah variasi genetik di mRNA, protein, dan tingkat metabolisme, seperti yang ditunjukkan pada Gambar 3. *Genome-wide association studies* (GWASs) yang dibantu oleh teknik metabolomik (mGWAS) dan *metabolic quantitative trait loci* (mQTLs) adalah alat yang ampuh untuk mendeteksi variasi genetik yang terkait dengan sifat-sifat metabolisme pada tanaman [200].



Gambar 5. *Quantitative trait loci* (QTL) untuk ekspresi gen atau fenotipe molekuler. Aliran informasi molekuler direpresentasikan dari DNA ke fenotipe sebagai respons terhadap sinyal stres biotik/abiotik (Guijas et al., 2018).

1.6.1 *Metabolomik QTLs*

Pengetahuan tentang jaringan metabolisme yang mengendalikan mekanisme kompleks dalam metabolomik memiliki peran potensial dalam pemuliaan yang dibantu metabolomik untuk mengembangkan kultivar elit untuk kualitas dan hasil yang lebih baik. Selanjutnya, data yang diperoleh dari investigasi mQTL mengarah pada pengetahuan yang lebih komprehensif tentang genetika kuantitatif [201]. Profil metabolik mempersempit kesenjangan antara genotipe dan fenotipe dan membuka cakrawala baru untuk diseksi metabolik, dimulai dengan identifikasi penanda polimorfisme nukleotida tunggal (SNP) atau analisis pemetaan mQTL untuk deteksi gen kandidat. Penanda metabolisme adalah alat yang efisien untuk penemuan sifat agronomi dan eksplorasi jalur biologis yang bertanggung jawab untuk berbagai fenotipe [65]. Pendekatan mQTLs membangun hubungan antara fenotipe dan genotipe, menyoroti wawasan penting dari struktur genetik, dan membedah variasi fenotipik melalui analisis terintegrasi ekspresi gen dan profil metabolik [202].

Kemajuan dalam *next-generation sequencing* (NGS) telah memungkinkan identifikasi mQTL untuk gen kandidat melalui peta densitas ultra-tinggi [203]. Gen kandidat yang mengontrol biosintesis metabolit sekunder dapat dideteksi dengan

menggunakan alat multi-omics yang terintegrasi dengan pendekatan genetika mundur dan maju [204]. Selanjutnya, genetika populasi yang menggabungkan genetika kuantitatif dengan profil metabolik telah mulai mengungkap kontrol genetik dari seluruh metabolom pada tanaman. Misalnya, analisis mQTL beras telah dilakukan dengan menggunakan peta kepadatan tinggi yang terdiri dari 1619 bin yang dihasilkan oleh sekuensing. Pada 12 kromosom, banyak mQTL telah terdeteksi pada daun bendera dan biji yang berkecambah [200]. Penyelidikan komparatif dari dua kultivar padi untuk analisis mQTL mengungkapkan akumulasi metabolit sekunder spesifik jaringan yang berada di bawah kendali genetik yang ketat. Sebanyak 19 metabolit terdeteksi pada 23 lokus, mengusulkan persimpangan yang signifikan dari kontrol genetik di berbagai sel [200]. Demikian juga, hasil serupa telah dilaporkan untuk tomat [205] jagung [201.202] dan kentang [206]. Analisis mQTL dari galur inbrida silang (BILs) dari kultivar padi mengamati 700 fitur metabolisme yang berbeda. Studi ini mengungkap 802 mQTL yang memiliki distribusi tidak teratur, yang mungkin mengontrol sifat metabolisme yang berbeda [207].

Recombinant inbred lines (RIL) jelay menjadi sasaran analisis mQTL dan mengidentifikasi 98 metabolit berbeda di bawah tekanan kekeringan. Metabolit yang responsif terhadap stres ini, termasuk asam sinapic, ferulic, dan flavon, berfungsi sebagai antioksidan dan mengendalikan regulasi ekspresi gen dan memodulasi fungsi protein di bawah tekanan [208]. Templer dan rekan menyelidiki barley mQTLs, adaptasi fisiologis, morfologis, dan metabolik di bawah kondisi cekaman kekeringan. Sekitar 57 metabolit dan beberapa mQTL unik, seperti suksinat, glutathione, dan -tokoferol, diidentifikasi dalam daun bendera melalui genetika asosiasi. Hasilnya menunjukkan dasar molekuler untuk pemuliaan barley dengan peningkatan toleransi terhadap cekaman kekeringan [209]. Di *Brassica napus*, profil metabolomik dan analisis genetik dilakukan berdasarkan sintesis glukosinolat. Hasil menunjukkan 105 mQTL terkait dengan produksi glukosinolat dalam biji dan daun [210].

Pembedahan wilayah genom yang terkait dengan sintesis metabolit sekunder di jalur liar dan introgresi (ILs) tomat

menyebabkan identifikasi 679 mQTL sekunder, yang terkait dengan toleransi stres lingkungan [211]. Dalam studi selanjutnya, analisis mQTL tomat dilakukan untuk mempelajari konsentrasi metabolit yang berbeda dari populasi IL yang serupa [212]. Pemetaan mQTL adalah alat yang efisien untuk mengidentifikasi sifat-sifat yang terkait dengan kerentanan stres. Profil metabolomik yang dimediasi LC/MS dari 179 galur gandum haploid ganda menyelidiki sekitar 558 metabolit sekunder, termasuk fenilpropanoid, flavonoid, dan alkaloid [213]. Analisis metabolik yang dimediasi GC-TOF/MS dari RIL tomat dilakukan untuk membuat profil benih dan menguraikan interaksi antara metabolisme benih, lingkungan, dan genetika. Studi ini mengidentifikasi beberapa wilayah genetik yang mengatur satu set metabolit [214].

Selain itu, banyak penelitian mengidentifikasi mQTL yang mengendalikan interaksi biotik pada tanaman. Dengan kemajuan dalam teknologi sekuensing, lebih banyak genom tanaman telah diurutkan dengan seringnya menggunakan analisis mQTL pada tanaman tanaman. Misalnya, gen untuk sintesis fenilpropanoid pada jagung [215], regulasi fenolamida pada jagung dan beras [216.217], dan kontrol glukosinolat pada kubis [218] telah diidentifikasi; produk sampingan ini dianggap sebagai metabolit defensif. Pemetaan mQTL menunjukkan dengan tepat gen kandidat untuk interaksi inang-patogen dan membedah jalur regulasi yang mengontrol mekanisme resistensi pada tanaman pangan.

1.6.2 Asosiasi Metabolomik dalam Genom

mGWAS telah muncul sebagai alat yang ampuh untuk menggambarkan dasar genetik alami dari berbagai perubahan metabolisme dalam metabolom tanaman. Studi terbaru mengungkapkan pandangan global metabolit tanaman sekunder yang terkait dengan sifat tertentu [219]. Analisis paralel mGWAS dengan studi asosiasi luas genom fenotipik (pGWASs) dalam beras secara efisien mengidentifikasi kandidat gen baru yang mengatur variasi dalam sifat-sifat penting secara agronomis [219]. Studi tentang polimorfisme metabolik pada varietas padi mengidentifikasi berbagai jenis glikosilasi flavon dan melaporkan korelasi positif antara kondisi pertumbuhan tanaman dengan paparan sinar UV-B

[220]. Sebanyak 175 aksesi beras menjadi sasaran analisis GWAS berbantuan metabolomik. Sekitar 323 asosiasi di antara 89 metabolit sekunder dan 143 SNP telah diidentifikasi, yang menunjukkan dua jenis arsitektur genetik yang mengidentifikasi konsentrasi metabolit sekunder [221]. Dong dan rekannya melakukan analisis variasi alami dan profil metabolik fenolamida dalam aksesi beras yang berbeda melalui teknik metabolomik bertarget yang dimediasi LC/MS. Akumulasi spatiotemporal dari banyak fenolamida dilaporkan dalam kultivar padi. Selain itu, mGWAS mengidentifikasi dua transferase spermidine hydroxycinnamoyl, yang menunjukkan variasi alami dalam konsentrasi spermidine. Studi ini mengungkapkan bahwa penyelidikan gen-ke-metabolik melalui mGWAS memberikan teknologi yang berharga untuk perbaikan genetik tanaman [217]. Analisis mGWAS telah dilakukan untuk membedah variasi biokimia dan genetik dalam metabolisme beras. Studi ini mengidentifikasi 36 gen yang terkait dengan metabolit unik yang mengontrol sifat nutrisi dan fisiologis. Selain itu, lima gen telah dikarakterisasi, termasuk tiga asiltransferase diduga, glukosiltransferase, dan metiltransferase [199].

Karakteristik metabolit primer dan sekunder dapat digunakan sebagai penanda metabolisme untuk memfasilitasi pemuliaan tanaman untuk perbaikan genetik. Pada tahun 2014, Wen dan rekan kerja mengintegrasikan ekspresi genetik dan pendekatan profil metabolik untuk memahami keragaman genetik berbagai metabolit dalam biji jagung. Dalam percobaan lain, analisis mGWAS diterapkan untuk mempelajari 289 galur jagung inbrida untuk menguji sifat-sifat metabolisme yang kompleks. Sekitar 26 metabolit diidentifikasi yang terkait dengan SNP dan mengontrol tujuan utama cinnamoyl-CoA reduktase dalam meningkatkan kualitas lignoselulosa pada jagung [222]. Demikian pula, mGWAS diterapkan untuk melepaskan jalur genetik yang terkait dengan biosintesis minyak kernel jagung. Sebanyak 368 galur inbrida digunakan dan 74 lokus sifat untuk produksi minyak yang lebih tinggi telah diidentifikasi. Hasil ini menjelaskan dasar genetik sintesis minyak inti jagung dengan kemungkinan peran mempercepat pemuliaan berbantuan penanda untuk meningkatkan kualitas dan kuantitas minyak [223].

Baru-baru ini, profil metabolik gandum musim dingin mengungkapkan hubungan antara 18372 SNP dan mengidentifikasi 76 metabolit. Korelasi antara metabolit menunjukkan hubungan fungsionalnya, yang mewakili hubungan erat dari beberapa jalur siklus asam sitrat. mGWAS mendeteksi korelasi kuat untuk enam fitur metabolik, seperti oligomer gula, L-tirosin, pentosa alkohol III, L-arginin, ornitin, dan asam oksalat, di antara 1 dan 17 SNP. Hasilnya memberikan dasar untuk mengantisipasi dampak intervensi genetik pada karakter metabolik yang sama dan pada akhirnya pada fenotipe metabolik tertentu [224]. Demikian juga, profil metabolik jagung dan tomat juga telah dilaporkan [225-227]. Ringkasan beberapa aplikasi mGWAS terbaru dalam perbaikan tanaman disajikan pada Tabel 4.

1.7 Tantangan Analisis Metabolomik

Kemajuan bidang metabolomik sangat luar biasa. Namun, beberapa hambatan perlu ditangani secara memadai untuk memanfaatkan metabolomik secara maksimal. Penghapusan hambatan ini akan membantu dalam mengeksplorasi platform baru untuk perbaikan tanaman, yang pada gilirannya akan menjamin ketahanan pangan global. Alat analisis saat ini untuk analisis metabolomik tanaman tidak dapat mendeteksi semua metabolit dalam jaringan sampel. Kelemahan ini secara langsung terkait dengan modifikasi biologis di setiap sel, sifat kimia kompleks metabolit dalam metabolisme tanaman, dan cakupan alat analisis yang dinamis.

Hambatan teknis untuk cakupan luas dan hambatan biologis untuk menarik pengetahuan yang efisien dan meningkatkan pemahaman tentang profil seluruh metabolom adalah perangkat utama dalam penelitian metabolomik. Karena jangkauan yang luas, beberapa dinamika, dan komposisi kimia yang beragam, sulit untuk mengidentifikasi metabolit menggunakan teknik analitik saat ini dibandingkan dengan sekuensing RNA. Kemajuan dalam instrumen analitik dapat mengarah pada presisi, seperti peningkatan NMR telah dieksploitasi untuk cakupan metabolit keseluruhan. Cakupan tersebut diharapkan dapat semakin ditingkatkan dengan modernisasi teknologi yang kita miliki saat ini. Ini akan

membutuhkan pendekatan terpadu holistik, di mana beberapa jaringan dari spesies yang terdiversifikasi dapat diperiksa dengan melakukan berbagai cara untuk ekstraksi sampel dan mengevaluasinya pada tahap metabolisme yang tersedia.

Namun, identifikasi dan penjelasan dari sejumlah besar metabolit tanaman yang belum dijelajahi adalah rintangan utama dalam metabolomik. Koordinasi berbagai enzim dalam proses metabolisme bersama dengan kompleksitas jalur metabolisme menjadikannya tugas yang menantang untuk mengubah fitur metabolit tunggal dalam proses biologis. Oleh karena itu, karakteristik metabolik ini menghalangi evaluasi langsung dari setiap metabolit spesifik melalui pendekatan konvensional dari genetika terbalik. Untuk mengatasi masalah ini, diperlukan pendekatan yang sangat canggih untuk modifikasi yang efisien dalam fitur kinetik enzim. Sementara merancang alat canggih untuk mengatasi rintangan ini diharapkan melibatkan pendekatan yang lebih canggih, kami berharap alat tersebut akan bermanfaat dalam membantu eksplorasi fitur akurat dari setiap metabolit dan menjelaskan fungsi biologis untuk mempelajari metabolit tertentu dengan sukses. Pada akhirnya, kami akan mengusulkan bahwa menguraikan fungsi metabolit spesifik mewakili rintangan besar yang tersisa dalam dekade ketiga metabolomik.

1.8 Pengembangan Metabolomik Masa Depan

Metabolomik telah mencapai tempat yang menonjol dalam penelitian biologi tanaman. Ini memiliki aplikasi yang luas dalam ilmu tanaman, mulai dari mengeksplorasi berbagai tekanan iklim, menyelidiki fungsi gen kandidat untuk menganalisis seluruh mekanisme biologis dalam sel, dan membedah hubungan genotipe-fenotipe dalam menanggapi berbagai tekanan. Namun, metabolisme tanaman masih menuntut penelitian ekstensif dan perhatian yang tepat untuk penambangan data, anotasi data, penilaian, pemrosesan, dan evaluasi. Integrasi alat bioinformatika canggih dengan pendekatan omics secara mahir membedah jaringan metabolisme baru untuk perbaikan tanaman.

Integrasi metabolomik dengan alat pasca-genomik dan pendekatan genetik telah menawarkan cara yang menarik untuk

mempelajari regulasi genetik tanaman dalam konteks metabolisme mereka. Metabolomik memiliki potensi besar di bidang pemuliaan genetik. Eksploitasi sekuensing genom throughput tinggi, genetika terbalik, dan alat metabolomik telah secara signifikan mengurangi waktu pengembangan yang bervariasi melalui pemuliaan yang dibantu metabolomik. Kombinasi pendekatan omics, seperti genomik, transkriptomik, dan metabolomik, memiliki potensi besar untuk mengeksplorasi jalur metabolisme kompleks yang mengatur proses pengaturan penting dalam metabolisme tanaman. Membuka blokir kemacetan tertentu, seperti menguraikan struktur jaringan metabolisme, efek penyaringan buatan pada metabolisme tanaman, dan hubungan antara metabolisme dan fenotip, membutuhkan upaya yang lebih berdedikasi. Aplikasi metabolomik di masa depan dapat mencakup identifikasi penanda metabolisme untuk mempelajari metabolisme tanaman dan untuk memprediksi sifat dan skala cekaman biotik/abiotik. Pendekatan seperti pemuliaan berbantuan metabolomik akan menemukan aplikasi luas dalam program perbaikan tanaman untuk mengembangkan plasma nutfah berdaya hasil tinggi, tahan cekaman, dan menciptakan varietas tanaman cerdas iklim. Selanjutnya, pendekatan metabolomik dapat digunakan untuk profil metabolik tanaman yang diedit genom menggunakan alat pengeditan genom modern seperti sistem CRISPR/Cas9 [228] untuk penilaian risiko dan urusan regulasi yang terkait dengan tanaman rekayasa genetika. Pemuliaan cepat adalah area menarik lainnya di mana metabolomik siap melakukan keajaiban untuk perbaikan tanaman.

PENUTUP

Analisis Metabolomik merupakan pendekatan yang dapat digunakan untuk menganalisis senyawa-senyawa metabolit yang dihasilkan oleh tanaman. Bidang ini merupakan bidang yang relative baru pada bidang karakterisasi tanaman melalui senyawa metabolit. Dengan mendapatkan karakteristik senyawa metabolit yang dihasilkan oleh tanaman, maka akan menjadi sumber informasi penting untuk memproduksi senyawa metabolit penting.

Metode ini menjadi pelengkap diantara metode 'omic' lainnya, sehingga dapat diperoleh suatu analisa 'omic' yang lebih lengkap. HPLC, UPLC, NMR dan LC-MS merupakan metode analisa metabolomik yang telah banyak digunakan untuk mengidentifikasi senyawa metabolit primer ataupun sekunder pada tanaman. Pada umumnya, senyawa tersebut banyak memiliki manfaat bagi tanaman itu sendiri ataupun sebagai pengembangan biofarmaka.

DAFTAR PUSTAKA

1. Shulaev, V.; Cortes, D.; Miller, G.; Mittler, R. Metabolomics for plant stress response. *Physiol. Plant.* 2008, 132, 199208.
2. Foito, A.; Stewart, D. Metabolomics: A high-throughput screen for biochemical and bioactivity diversity in plants and crops. *Curr. Pharm.* 2018, 24, 2043–2054.
3. Deborde, C.; Moing, A.; Roch, L.; Jacob, D.; Rolin, D.; Giraudeau, P. Plant metabolism as studied by NMR spectroscopy. *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* 2017, 102, 61–97.
4. Obata, T.; Witt, S.; Lisec, J.; Palacios-Rojas, N.; Florez-Sarasa, I.; Yousfi, S.; Araus, J.L.; Cairns, J.E.; Fernie, A.R. Metabolite profiles of maize leaves in drought, heat, and combined stress field trials reveal the relationship between metabolism and grain yield. *Plant Physiol.* 2015, 169, 2665–2683.
5. Han, S.; Micallef, S.A. Environmental metabolomics of the tomato plant surface provides insights on *Salmonella enterica* colonization. *Appl. Environ. Microbiol.* 2016, 82, 3131–3142.
6. Garcia-Cela, E.; Kiaitsi, E.; Medina, A.; Sulyok, M.; Krska, R.; Magan, N. Interacting environmental stress factors affects targeted metabolomic profiles in stored natural wheat and that inoculated with *F. graminearum*. *Toxins* 2018, 10, 56.
7. Piasecka, A.; Kachlicki, P.; Stobiecki, M. Analytical Methods for Detection of plant metabolomes changes in response to biotic and abiotic stresses. *IJMS* 2019, 20, 379.
8. Sung, J.; Lee, S.; Lee, Y.; Ha, S.; Song, B.; Kim, T.; Waters, B.M.; Krishnan, H.B. Metabolomic profiling from leaves and roots of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plants grown under nitrogen, phosphorus or potassium-deficient condition. *Plant Sci.* 2015, 241, 55–64.
9. Che-Othman, M.H.; Jacoby, R.P.; Millar, A.H.; Taylor, N.L. Wheat mitochondrial respiration shifts from the tricarboxylic acid cycle to the GABA shunt under salt stress. *New Phytol.* 2019.
10. Dawid, C.; Hille, K. Functional Metabolomics – A useful tool to characterize stress-induced metabolome alterations opening

- new avenues towards tailoring food crop quality. *Agronomy* 2018, 8, 138.
11. Khan, F.; Fuentes, D.; Threthowan, R.; Mohammad, F.; Ahmad, M. Comparative metabolite profiling of two wheat genotypes as affected by nitrogen stress at seedling stage. *J. Anim. Plant Sci.* 2019, 29, 260–268.
 12. Wishart, D.S. Advances in metabolite identification. *Bioanalysis* 2011, 3, 1769–1782.
 13. Zivy, M.; Wienkoop, S.; Renaut, J.; Pinheiro, C.; Goulas, E.; Carpentier, S. The quest for tolerant varieties: The importance of integrating “omics” techniques to phenotyping. *Front. Plant Sci.* 2015, 6, 448.
 14. Yang, L.; Fountain, J.C.; Ji, P.; Ni, X.; Chen, S.; Lee, R.D.; Kemerait, R.C.; Guo, B. Deciphering drought-induced metabolic responses and regulation in developing maize kernels. *Plant Biotechnol. J.* 2018, 16, 1616–1628.
 15. Gayen, D.; Barua, P.; Lande, N.V.; Varshney, S.; Sengupta, S.; Chakraborty, S.; Chakraborty, N. Dehydration-responsive alterations in the chloroplast proteome and cell metabolomic profile of rice reveals key stress adaptation responses. *Environ. Exper. Bot.* 2019, 160, 12–24.
 16. Hein, J.A.; Sherrard, M.E.; Manfredi, K.P.; Abebe, T. The fifth leaf and spike organs of barley (*Hordeum vulgare* L.) display different physiological and metabolic responses to drought stress. *BMC Plant Biol.* 2016, 16, 248.
 17. Kang, Z.; Babar, M.A.; Khan, N.; Guo, J.; Khan, J.; Islam, S.; Shrestha, S.; Shahi, D. Comparative metabolomic profiling in the roots and leaves in contrasting genotypes reveals complex mechanisms involved in post-anthesis drought tolerance in wheat. *PLoS ONE* 2019, 14, e0213502.
 18. Ma, N.L.; Lah, W.A.C.; Kadir, N.A.; Mustaqim, M.; Rahmat, Z.; Ahmad, A.; Lam, S.D.; Ismail, M.R. Susceptibility and tolerance of rice crop to salt threat: Physiological and metabolic inspections. *PLoS ONE* 2018, 13, e0192732.
 19. Ribbenstedt, A.; Ziarrusta, H.; Benskin, J.P. Development, characterization and comparisons of targeted and non-targeted metabolomics methods. *PLoS ONE* 2018, 13, e0207082.

20. Yadav, A.K.; Carroll, A.J.; Estavillo, G.M.; Rebetzke, G.J.; Pogson, B.J. Wheat drought tolerance in the field is predicted by amino acid responses to glasshouse-imposed drought. *J. Exp. Bot.* 2019, 70, 4931–4948.
21. Cuperlovic-Culf, M.; Vaughan, M.M.; Vermillion, K.; Surendra, A.; Teresi, J.; McCormick, S.P. Effects of atmospheric CO₂ level on the metabolic response of resistant and susceptible wheat to *Fusarium graminearum* infection. *Mol. Plant Microbe Interact.* 2019, 32, 379–391.
22. Komatsu, S.; Nakamura, T.; Sugimoto, Y.; Sakamoto, K. Proteomic and metabolomic analyses of soybean root tips under flooding stress. *Protein Pept. Lett.* 2014, 21, 865–884.
23. Chang, J.; Cheong, B.E.; Natera, S.; Roessner, U. Morphological and metabolic responses to salt stress of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars which differ in salinity tolerance. *Plant Physiol. Biochem.* 2019, 144, 427–435.
24. Zhou, S.; Zhang, Y.K.; Kremling, K.A.; Ding, Y.; Bennett, J.S.; Bae, J.S.; Kim, D.K.; Ackerman, H.H.; Kolomiets, M.V.; Schmelz, E.A.; et al. Ethylene signaling regulates natural variation in the abundance of antifungal acetylated diferuloylsucroses and *Fusarium graminearum* resistance in maize seedling roots. *New Phytol.* 2019, 221, 2096–2111.
25. Thomason, K.; Babar, M.A.; Erickson, J.E.; Mulvaney, M.; Beecher, C.; MacDonald, G. Comparative physiological and metabolomics analysis of wheat (*Triticum aestivum* L.) following post-anthesis heat stress. *PLoS ONE* 2018, 13, e0197919.
26. Seybold, H.; Demetrowitsch, T.; Hassani, M.A.; Szymczak, S.; Reim, E.; Haueisen, J.; Rühlemann, M.; Franke, A.; Schwarz, K.; Stukenbrock, E.H. Hemibiotrophic fungal pathogen induces systemic susceptibility and systemic shifts in wheat metabolome and microbiome composition. *bioRxiv* 2019, 702373.
27. Boiteau, R.; Hoyt, D.; Nicora, C.; Kinmonth-Schultz, H.; Ward, J.; Bingol, K. Structure elucidation of unknown metabolites in metabolomics by combined NMR and MS/MS prediction. *Metabolites* 2018, 8, 8.

28. Kang, X.; Kirui, A.; Widanage, M.C.D.; Mentink-Vigier, F.; Cosgrove, D.J.; Wang, T. Lignin-polysaccharide interactions in plant secondary cell walls revealed by solid-state NMR. *Nat. Commun.* 2019, 10, 347.
29. Pang, Q.; Zhang, T.; Wang, Y.; Kong, W.; Guan, Q.; Yan, X.; Chen, S. Metabolomics of early stage plant cell-microbe interaction using stable isotope labeling. *Front. Plant Sci.* 2018, 9, 760.
30. Lucas-Torres, C.; Wong, A. Current developments in μ MAS NMR analysis for metabolomics. *Metabolites* 2019, 9, 29.
31. Verpoorte, R.; Choi, Y.H.; Kim, H.K. NMR-based metabolomics at work in phytochemistry. *Phytochem. Rev.* 2007, 6, 3–14.
32. Kim, H.K.; Choi, Y.H.; Verpoorte, R. NMR-based metabolomic analysis of plants. *Nat. Protoc.* 2010, 5, 536.
33. Kim, H.K.; Choi, Y.H.; Verpoorte, R. NMR-based plant metabolomics: Where do we stand, where do we go? *Trends Biotechnol.* 2011, 29, 267–275.
34. Chikayama, E.; Sekiyama, Y.; Okamoto, M.; Nakanishi, Y.; Tsuboi, Y.; Akiyama, K.; Saito, K.; Shinozaki, K.; Kikuchi, J. Statistical indices for simultaneous large-scale metabolite detections for a single NMR spectrum. *Anal. Chem.* 2010, 82, 1653–1658.
35. Kovacs, H.; Moskau, D.; Spraul, M. Cryogenically cooled probes – A leap in NMR technology. *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* 2005, 46, 131–155.
36. Theodoridis, G.; Gika, H.; Franceschi, P.; Caputi, L.; Arapitsas, P.; Scholz, M.; Masuero, D.; Wehrens, R.; Vrhovsek, U.; Mattivi, F. LC-MS based global metabolite profiling of grapes: Solvent extraction protocol optimisation. *Metabolomics* 2012, 8, 175–185.
37. D'Amelia, L.; Dell'Aversana, E.; Woodrow, P. Metabolomics for Crop Improvement Against Salinity Stress. In *Salinity Responses and Tolerance in Plants*, 2nd ed.; Kumar, V., Wani, S.H., Suprasanna, P., Tran, L.S.P., Eds.; Springer: Cham, Switzerland, 2018; Volume 2, pp. 267–287.
38. Jorge, T.F.; Rodrigues, J.A.; Caldana, C.; Schmidt, R.; van Dongen, J.T.; Thomas-Oates, J.; António, C. Mass

- spectrometry-based plant metabolomics: Metabolite responses to abiotic stress. *Mass Spectrom. Rev.* 2016, 35, 620–649.
39. Wang, L.; Sun, X.; Weiszmann, J.; Weckwerth, W. System-level and granger network analysis of integrated proteomic and metabolomic dynamics identifies key points of grape berry development at the interface of primary and secondary metabolism. *Front. Plant Sci.* 2017, 8, 1066.
 40. Enomoto, H.; Sensu, T.; Yumoto, E.; Yokota, T.; Yamane, H. Derivatization for detection of abscisic acid and 12-oxo-phytodienoic acid using matrix-assisted laser desorption/ionization imaging mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2018, 32, 1565–1572.
 41. Farahbakhsh, F.; Hamzehzarghani, H.; Massah, A.; Tortosa, M.; Yasayee, M.; Rodriguez, V.M. Comparative metabolomics of temperature sensitive resistance to wheat streak mosaic virus (WSMV) in resistant and susceptible wheat cultivars. *J. Plant Physiol.* 2019, 237, 30–42.
 42. Suharti, W.S.; Nose, A.; Zheng, S.H. Metabolomic study of two rice lines infected by *Rhizoctonia solani* in negative ion mode by CE/TOF-MS. *J. Plant Physiol.* 2016, 206, 13–24.
 43. Xu, S.; Hu, C.; Hussain, S.; Tan, Q.; Wu, S.; Sun, X. Metabolomics analysis reveals potential mechanisms of tolerance to excess molybdenum in soybean seedlings. *Ecotox. Environ. Saf.* 2018, 164, 589–596.
 44. Ogbaga, C.C.; Stepien, P.; Dyson, B.C.; Rattray, N.J.; Ellis, D.I.; Goodacre, R.; Johnson, G.N. Biochemical analyses of sorghum varieties reveal differential responses to drought. *PLoS ONE* 2016, 11, e0154423.
 45. Kim, H.K.; Verpoorte, R. Sample preparation for plant metabolomics. *Phytochem. Anal. Int. J. Plant Chem. Biochem. Tech.* 2010, 21, 4–13.
 46. Wu, X.; Li, N.; Li, H.; Tang, H. An optimized method for NMR-based plant seed metabolomic analysis with maximized polar metabolite extraction efficiency, signal-to-noise ratio, and chemical shift consistency. *Analyst* 2014, 139, 1769–1778.

47. Li, N.; peng Song, Y.; Tang, H.; Wang, Y. Recent developments in sample preparation and data pre-treatment in metabonomics research. *Arch. Biochem. Biophys.* 2016, 589, 4–9.
48. Causon, T.J.; Hann, S. Review of sample preparation strategies for MS-based metabolomic studies in industrial biotechnology. *Anal. Chim.* 2016, 938, 18–32.
49. Harbourne, N.; Marete, E.; Jacquier, J.C.; O’Riordan, D. Effect of drying methods on the phenolic constituents of meadowsweet (*Filipendula ulmaria*) and willow (*Salix alba*). *LWT Food Sci. Technol.* 2009, 42, 1468–1473.
50. Vuckovic, D. Current trends and challenges in sample preparation for global metabolomics using liquid chromatography–mass spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.* 2012, 403, 1523–1548.
51. Gallardo, K.; Le Signor, C.; Vandekerckhove, J.; Thompson, R.D.; Burstin, J. Proteomics of *Medicago truncatula* seed development establishes the time frame of diverse metabolic processes related to reserve accumulation. *Plant Physiol.* 2003, 133, 664–682.
52. Reyes-Garcés, N.; Gionfriddo, E. Recent developments and applications of solid phase microextraction as a sample preparation approach for mass-spectrometry-based metabolomics and lipidomics. *Trac Trend. Anal Chem.* 2019, 113, 172–181.
53. Gong, Z.G.; Hu, J.; Wu, X.; Xu, Y.J. The recent developments in sample preparation for mass spectrometry-based metabolomics. *Crit. Rev. Anal. Chem.* 2017, 47, 325–331. [CrossRef] [PubMed]
54. Pourmortazavi, S.M.; Hajimirsadeghi, S.S. Supercritical fluid extraction in plant essential and volatile oil analysis. *J. Chromatogr. A* 2007, 1163, 2–24.
55. Altemimi, A.; Watson, D.G.; Choudhary, R.; Dasari, M.R.; Lightfoot, D.A. Ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from peaches and pumpkins. *PLoS ONE* 2016, 11, e0148758.
56. Zuorro, A.; Lavecchia, R.; Medici, F.; Piga, L. Enzyme-assisted production of tomato seed oil enriched with lycopene from tomato pomace. *Food Bioprocess Tech.* 2013, 6, 3499–3509.

57. Velic`kovic´, D.; Chu, R.K.; Myers, G.L.; Ahkami, A.H.; Anderton, C.R. An approach for visualizing the spatial metabolome of an entire plant root system inspired by the Swiss-rolling technique. *J. Mass Spectrom.* 2019.
58. Aoki-Kinoshita, K.F. Overview of KEGG applications to omics-related research. *J. Pest. Sci.* 2006, 31, 296–299.
59. Kuhn, S.; Egert, B.; Neumann, S.; Steinbeck, C. Building blocks for automated elucidation of metabolites: Machine learning methods for NMR prediction. *BMC Bioinform.* 2008, 9, 400.
60. Redestig, H.; Szymanski, J.; Hirai, M.Y.; Selbig, J.; Willmitzer, L.; Nikoloski, Z.; Saito, K. Data integration, metabolic networks and systems biology. *Annu. Plant Rev. Online* 2018, 261–316.
61. Doerfler, H.; Lyon, D.; Nägele, T.; Sun, X.; Fragner, L.; Hadacek, F.; Egelhofer, V.; Weckwerth, W. Granger causality in integrated GC–MS and LC–MS metabolomics data reveals the interface of primary and secondary metabolism. *Metabolomics* 2013, 9, 564–574.
62. Sun, X.; Weckwerth, W. COVAIN: A toolbox for uni- and multivariate statistics, time-series and correlation network analysis and inverse estimation of the differential Jacobian from metabolomics covariance data. *Metabolomics* 2012, 8, 81–93.
63. Liland, K.H. Multivariate methods in metabolomics—from pre-processing to dimension reduction and statistical analysis. *Trends Anal. Chem.* 2011, 30, 827–841.
64. Song, Y.; Schreier, P.J.; Ramírez, D.; Hasija, T. Canonical correlation analysis of high-dimensional data with very small sample support. *Signal Process.* 2016, 128, 449–458.
65. Fernandez, O.; Urrutia, M.; Bernillon, S.; Giauffret, C.; Tardieu, F.; Le Gouis, J.; Langlade, N.; Charcosset, A.; Moing, A.; Gibon, Y. Fortune telling: Metabolic markers of plant performance. *Metabolomics* 2016, 12, 158.
66. Saccenti, E.; Hoefsloot, H.C.; Smilde, A.K.; Westerhuis, J.A.; Hendriks, M.M. Reflections on univariate and multivariate analysis of metabolomics data. *Metabolomics* 2014, 10, 361–374.
67. Fiehn, O.; Barupal, D.K.; Kind, T. Extending biochemical databases by metabolomic surveys. *J. Biol. Chem.* 2011, 286, 23637–23643.

68. Ren, S.; Hinzman, A.A.; Kang, E.L.; Szczesniak, R.D.; Lu, L.J. Computational and statistical analysis of metabolomics data. *Metabolomics* 2015, 11, 1492–1513.
69. Weckwerth, W.; Morgenthal, K. Metabolomics: From pattern recognition to biological interpretation. *Drug Discov. Today* 2005, 10, 1551–1558.
70. Goodacre, R.; Vaidyanathan, S.; Dunn, W.B.; Harrigan, G.G.; Kell, D.B. Metabolomics by numbers: Acquiring and understanding global metabolite data. *Trends Biotechnol.* 2004, 22, 245–252.
71. Xu, Y.; Goodacre, R. Multiblock principal component analysis: An efficient tool for analyzing metabolomics data which contain two influential factors. *Metabolomics* 2012, 8, 37–51.
72. Chun, H.; Keles, S. Sparse partial least squares regression for simultaneous dimension reduction and variable selection. *J. R. Stat. Soc. Series B (Stat. Methodol.)* 2010, 72, 3–25.
73. Trygg, J.; Wold, S. Orthogonal projections to latent structures (O-PLS). *J. Chemom. A J. Chemom. Soc.* 2002, 16, 119–128.
74. Aggio, R.; VillasBôas, S.G.; Ruggiero, K. Metab: An R package for high-throughput analysis of metabolomics data generated by GC-MS. *Bioinformatics* 2011, 27, 2316–2318.
75. Costa, C.; Maraschin, M.; Rocha, M. An R package for the integrated analysis of metabolomics and spectral data. *Comput. Methods Programs Biomed.* 2016, 129, 117–124.
76. Fitzpatrick, M.A.; McGrath, C.M.; Young, S.P. Pathomx: An interactive workflow-based tool for the analysis of metabolomic data. *BMC Bioinform.* 2014, 15, 396.
77. Liang, Y.J.; Lin, Y.T.; Chen, C.W.; Lin, C.W.; Chao, K.M.; Pan, W.H.; Yang, H.C. SMART: Statistical Metabolomics Analysis An R Tool. *Anal. Chem.* 2016, 88, 6334–6341.
78. Spicer, R.; Salek, R.M.; Moreno, P.; Cañueto, D.; Steinbeck, C. Navigating freely-available software tools for metabolomics analysis. *Metabolomics* 2017, 13, 106.
79. Ernest, B.; Gooding, J.R.; Campagna, S.R.; Saxton, A.M.; Voy, B.H. MetabR: An R script for linear model analysis of quantitative metabolomic data. *BMC Res. Notes* 2012, 5, 596.

80. Chong, J.; Xia, J. MetaboAnalystR: An R package for flexible and reproducible analysis of metabolomics data. *Bioinformatics* 2018, 34, 4313–4314.
81. Al-Akwaa, F.M.; Yunits, B.; Huang, S.; Alhajaji, H.; Garmire, L.X. Lilikoi: An R package for personalized pathway-based classification modeling using metabolomics data. *GigaScience* 2018, 7, 136.
82. Mock, A.; Warta, R.; Dettling, S.; Brors, B.; Jäger, D.; Herold-Mende, C. MetaboDiff: An R package for differential metabolomic analysis. *Bioinformatics* 2018, 34, 3417–3418.
83. Wishart, D.S. Current progress in computational metabolomics. *Brief. Bioinform.* 2007, 8, 279–293.
84. Gardinassi, L.G.; Xia, J.; Safo, S.E.; Li, S. Bioinformatics tools for the interpretation of metabolomics data. *Curr. Pharmacol. Rep.* 2017, 3, 374–383.
85. Tautenhahn, R.; Patti, G.J.; Rinehart, D.; Siuzdak, G. XCMS Online: A web-based platform to process untargeted metabolomic data. *Anal. Chem.* 2012, 84, 5035–5039.
86. Montenegro-Burke, J.R.; Aisporna, A.E.; Benton, H.P.; Rinehart, D.; Fang, M.; Huan, T.; Warth, B.; Forsberg, E.; Abe, B.T.; Ivanisevic, J. Data streaming for metabolomics: Accelerating data processing and analysis from days to minutes. *Anal. Chem.* 2017, 89, 1254–1259.
87. Forsberg, E.M.; Huan, T.; Rinehart, D.; Benton, H.P.; Warth, B.; Hilmers, B.; Siuzdak, G. Data processing, multi-omic pathway mapping, and metabolite activity analysis using XCMS Online. *Nat. Protoc.* 2018, 13, 633.
88. Blaženović, I.; Kind, T.; Ji, J.; Fiehn, O. Software tools and approaches for compound identification of LC-MS/MS data in metabolomics. *Metabolites* 2018, 8, 31.
89. Smith, C.A.; O'Maille, G.; Want, E.J.; Qin, C.; Trauger, S.A.; Brandon, T.R.; Custodio, D.E.; Abagyan, R.; Siuzdak, G. METLIN: A metabolite mass spectral database. *Ther. Drug Monit.* 2005, 27, 747–751.
90. Daub, C.O.; Kloska, S.; Selbig, J. MetaGeneAlyse: Analysis of integrated transcriptional and metabolite data. *Bioinformatics* 2003, 19, 2332–2333.

91. Xia, J.; Wishart, D.S. MetPA: A web-based metabolomics tool for pathway analysis and visualization. *Bioinformatics* 2010, 26, 2342–2344.
92. Xia, J.; Wishart, D.S. MSEA: A web-based tool to identify biologically meaningful patterns in quantitative metabolomic data. *Nucleic Acids Res.* 2010, 38, W71–W77.
93. Kessler, N.; Neuweger, H.; Bonte, A.; Langenkämper, G.; Niehaus, K.; Nattkemper, T.W.; Goesmann, A. MeltDB 2.0—advances of the metabolomics software system. *Bioinformatics* 2013, 29, 2452–2459.
94. Chang, H.Y.; Chen, C.T.; Lih, T.M.; Lynn, K.S.; Juo, C.G.; Hsu, W.L.; Sung, T.Y. iMet-Q: A user-friendly tool for label-free metabolomics quantitation using dynamic peak-width determination. *PLoS ONE* 2016, 11, e0146112.
95. Lommen, A.; Kools, H.J. MetAlign 3.0: Performance enhancement by efficient use of advances in computer hardware. *Metabolomics* 2012, 8, 719–726.
96. Tsugawa, H.; Cajka, T.; Kind, T.; Ma, Y.; Higgins, B.; Ikeda, K.; Kanazawa, M.; VanderGheynst, J.; Fiehn, O.; Arita, M. MS-DIAL: Data-independent MS/MS deconvolution for comprehensive metabolome analysis. *Nat. Methods* 2015, 12, 523.
97. Draper, J.; Enot, D.P.; Parker, D.; Beckmann, M.; Snowdon, S.; Lin, W.; Zubair, H. Metabolite signal identification in accurate mass metabolomics data with MZedDB, an interactive m/z annotation tool utilising predicted ionisation behaviour ‘rules’. *BMC Bioinform.* 2009, 10, 227.
98. Aoki, K.F.; Kanehisa, M. Using the KEGG database resource. *Curr. Protoc. Bioinform.* 2005, 11, 1–12.
99. Davidson, R.L.; Weber, R.J.; Liu, H.; Sharma-Oates, A.; Viant, M.R. Galaxy-M: A Galaxy workflow for processing and analyzing direct infusion and liquid chromatography mass spectrometry-based metabolomics data. *Gigascience* 2016, 5, 10.
100. Wanichthanarak, K.; Fan, S.; Grapov, D.; Barupal, D.K.; Fiehn, O. Metabox: A toolbox for metabolomic data analysis, interpretation and integrative exploration. *PLoS ONE* 2017, 12, e0171046.

101. Alonso, R.; Salavert, F.; Garcia-Garcia, F.; Carbonell-Caballero, J.; Bleda, M.; Garcia-Alonso, L.; Sanchis-Juan, A.; Perez-Gil, D.; Marin-Garcia, P.; Sanchez, R. Babelomics 5.0: Functional interpretation for new generations of genomic data. *Nucleic Acids Res.* 2015, 43, W117–W121.
102. Reich, M.; Liefeld, T.; Gould, J.; Lerner, J.; Tamayo, P.; Mesirov, J.P. GenePattern 2.0. *Nat. Genet.* 2006, 38, 500.
103. Xia, J.; Psychogios, N.; Young, N.; Wishart, D.S. MetaboAnalyst: A web server for metabolomic data analysis and interpretation. *Nucleic Acids Res.* 2009, 37, W652–W660.
104. Zhou, B.; Wang, J.; Ransom, H.W. MetaboSearch: Tool for mass-based metabolite identification using multiple databases. *PLoS ONE* 2012, 7, e40096.
105. Kastenmüller, G.; Römisch-Margl, W.; Wägele, B.; Altmaier, E.; Suhre, K. metaP-server: A web-based metabolomics data analysis tool. *BioMed Res. Int.* 2010, 2011, 1–7.
106. Cottret, L.; Wildridge, D.; Vinson, F.; Barrett, M.P.; Charles, H.; Sagot, M.F.; Jourdan, F. MetExplore: A web server to link metabolomic experiments and genome-scale metabolic networks. *Nucleic Acids Res.* 2010, 38, W132–W137.
107. Rojas-Chertó, M.; van Vliet, M.; Peironcelly, J.E.; Van Doorn, R.; Kooyman, M.; Te Beek, T.; Van Driel, M.A.; Hankemeier, T.; Reijmers, T. MetiTree: A web application to organize and process high-resolution multi-stage mass spectrometry metabolomics data. *Bioinformatics* 2012, 28, 2707–2709.
108. Ruttkies, C.; Schymanski, E.L.; Wolf, S.; Hollender, J.; Neumann, S. MetFrag relaunched: Incorporating strategies beyond in silico fragmentation. *J. Cheminform.* 2016, 8, 3.
109. Schreiber, F.; Colmsee, C.; Czauderna, T.; Grafahrend-Belau, E.; Hartmann, A.; Junker, A.; Junker, B.H.; Klapperstück, M.; Scholz, U.; Weise, S. MetaCrop 2.0: Managing and exploring information about crop plant metabolism. *Nucleic Acids Res.* 2011, 40, D1173–D1177.
110. Daly, R.; Rogers, S.; Wandy, J.; Jankevics, A.; Burgess, K.E.; Breitling, R. MetAssign: Probabilistic annotation of metabolites from LC-MS data using a Bayesian clustering approach. *Bioinformatics* 2014, 30, 2764–2771.

111. Zhang, W.; Chang, J.; Lei, Z.; Huhman, D.; Sumner, L.W.; Zhao, P.X. MET-COFEA: A liquid chromatography/mass spectrometry data processing platform for metabolite compound feature extraction and annotation. *Anal. Chem.* 2014, 86, 6245–6253.
112. Horai, H.; Arita, M.; Kanaya, S.; Nihei, Y.; Ikeda, T.; Suwa, K.; Ojima, Y.; Tanaka, K.; Tanaka, S.; Aoshima, K. MassBank: A public repository for sharing mass spectral data for life sciences. *J. Mass Spectrom.* 2010, 45, 703–714.
113. Tyanova, S.; Temu, T.; Cox, J. The MaxQuant computational platform for mass spectrometry-based shotgun proteomics. *Nat. Protoc.* 2016, 11, 2301–2319.
114. Gerlich, M.; Neumann, S. MetFusion: Integration of compound identification strategies. *J. Mass Spectrom.* 2013, 48, 291–298.
115. Clasquin, M.F.; Melamud, E.; Rabinowitz, J.D. LC-MS data processing with MAVEN: A metabolomic analysis and visualization engine. *Curr. Protoc. Bioinform.* 2012, 37, 14.11.1–14.11.23.
116. Pluskal, T.; Castillo, S.; Villar-Briones, A.; Orešič, M. MZmine 2: Modular framework for processing, visualizing, and analyzing mass spectrometry-based molecular profile data. *BMC Bioinform.* 2010, 11, 395.
117. Kaefer, A.; Landesfeind, M.; Feussner, K.; Mosblech, A.; Heilmann, I.; Morgenstern, B.; Feussner, I.; Meinicke, P. MarVis-Pathway: Integrative and exploratory pathway analysis of non-targeted metabolomics data. *Metabolomics* 2015, 11, 764–777.
118. Li, S.; Park, Y.; Duraisingham, S.; Strobel, F.H.; Khan, N.; Soltow, Q.A.; Jones, D.P.; Pulendran, B. Predicting network activity from high throughput metabolomics. *PLoS Comput. Biol.* 2013, 9, e1003123.
119. Cui, Q.; Lewis, I.A.; Hegeman, A.D.; Anderson, M.E.; Li, J.; Schulte, C.F.; Westler, W.M.; Eghbalnia, H.R.; Sussman, M.R.; Markley, J.L. Metabolite identification via the madison metabolomics consortium database. *Nat. Biotechnol.* 2008, 26, 162.

120. Mahieu, N.G.; Genenbacher, J.L.; Patti, G.J. A roadmap for the XCMS family of software solutions in metabolomics. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 2016, 30, 87–93.
121. Willighagen, E.L.; Mayfield, J.W.; Alvarsson, J.; Berg, A.; Carlsson, L.; Jeliaskova, N.; Kuhn, S.; Pluskal, T.; Rojas-Chertó, M.; Spjuth, O. The Chemistry Development Kit (CDK) v2. 0: Atom typing, depiction, molecular formulas, and substructure searching. *J. Cheminform.* 2017, 9, 33.
122. Allen, F.; Pon, A.; Wilson, M.; Greiner, R.; Wishart, D. CFM-ID: A web server for annotation, spectrum prediction and metabolite identification from tandem mass spectra. *Nucleic Acids Res.* 2014, 42, W94–W99.
123. Jiang, W.; Qiu, Y.; Ni, Y.; Su, M.; Jia, W.; Du, X. An Automated Data Analysis Pipeline for GC– TOF– MS Metabonomics Studies. *J. Proteome Res.* 2010, 9, 5974–5981.
124. Boutrot, F.; Zipfel, C. Function, discovery, and exploitation of plant pattern recognition receptors for broad-spectrum disease resistance. *Annu. Rev. Phytopathol.* 2017, 55, 257–286.
125. Yang Han, Y.; Xiu Li, A.; Li, F.; Rong Zhao, M.; Wang, W. Characterization of a wheat (*Triticum aestivum* L.) expansin gene, TaEXPB23, involved in the abiotic stress response and phytohormone regulation. *Plant Physiol. Biochem.* 2012, 54, 49–58.
126. García-Cristobal, J.; García-Villaraco, A.; Ramos, B.; Gutierrez-Mañero, J.; Lucas, J.A. Priming of pathogenesis related-proteins and enzymes related to oxidative stress by plant growth promoting rhizobacteria on rice plants upon abiotic and biotic stress challenge. *J. Plant Physiol.* 2015, 188, 72–79.
127. Raza, A.; Razzaq, A.; Mehmood, S.S.; Zou, X.; Zhang, X.; Lv, Y.; Xu, J. Impact of climate change on crops adaptation and strategies to tackle its outcome: A review. *Plants* 2019, 8, 34.
128. Guo, R.; Shi, L.; Jiao, Y.; Li, M.; Zhong, X.; Gu, F.; Liu, Q.; Xia, X.; Li, H. Metabolic responses to drought stress in the tissues of drought-tolerant and drought-sensitive wheat genotype seedlings. *AoB Plants* 2018, 10, ply016.
129. Roupheal, Y.; Raimondi, G.; Lucini, L.; Carillo, P.; Kyriacou, M.C.; Colla, G.; Cirillo, V.; Pannico, A.; El-Nakhel, C.; De

- Pascale, S. Physiological and metabolic responses triggered by omeprazole improve tomato plant tolerance to NaCl stress. *Front. Plant Sci.* 2018, 9, 249.
130. Blum, A. Osmotic adjustment is a prime drought stress adaptive engine in support of plant production. *Plant Cell Envir.* 2017, 40, 4–10.
 131. Krasensky, J.; Jonak, C. Drought, salt, and temperature stress-induced metabolic rearrangements and regulatory networks. *J. Exp. Bot.* 2012, 63, 1593–1608.
 132. Chaves, M.; Oliveira, M. Mechanisms underlying plant resilience to water deficits: Prospects for water-saving agriculture. *J. Exp. Bot.* 2004, 55, 2365–2384.
 133. Bitrián, M.; Zarza, X.; Altabella, T.; Tiburcio, A.F.; Alcázar, R. Polyamines under abiotic stress: Metabolic crossroads and hormonal crosstalks in plants. *Metabolites* 2012, 2, 516–528.
 134. Marcěk, T.; Hamow, K.Á.; Végh, B.; Janda, T.; Darko, E. Metabolic response to drought in six winter wheat genotypes. *PLoS ONE* 2019, 14, e0212411.
 135. Michaletti, A.; Naghavi, M.R.; Toorchi, M.; Zolla, L.; Rinalducci, S. Metabolomics and proteomics reveal drought-stress responses of leaf tissues from spring-wheat. *Sci. Rep.* 2018, 8, 5710.
 136. Rahman, M.A.; Akond, M.; Babar, M.A.; Beecher, C.; Erickson, J.; Thomason, K.; De Jong, F.A.; Mason, R.E. LC-HRMS based non-targeted metabolomic profiling of wheat (*Triticum aestivum* L.) under post-anthesis drought stress. *AJPS* 2017, 8, 3024.
 137. Skiryycz, A.; Inzé, D. More from less: Plant growth under limited water. *Curr. Opin. Biotechnol.* 2010, 21, 197–203. [CrossRef]
 138. Nam, K.H.; Kim, H.J.; Pack, I.S.; Kim, H.J.; Chung, Y.S.; Kim, S.Y.; Kim, C.G. Global metabolite profiling based on GC-MS and LC-MS/MS analyses in ABF3-overexpressing soybean with enhanced drought tolerance. *Appl. Biol. Chem.* 2019, 62, 15.
 139. Ma, X.; Xia, H.; Liu, Y.; Wei, H.; Zheng, X.; Song, C.; Chen, L.; Liu, H.; Luo, L. Transcriptomic and metabolomic studies disclose key metabolism pathways contributing to well-maintained photosynthesis under the drought and the

- consequent drought-tolerance in rice. *Front. Plant Sci.* 2016, 7, 1886.
140. Do, P.T.; Degenkolbe, T.; Erban, A.; Heyer, A.G.; Kopka, J.; Köhl, K.I.; Hinch, D.K.; Zuther, E. Dissecting rice polyamine metabolism under controlled long-term drought stress. *PLoS ONE* 2013, 8, e60325.
141. Witt, S.; Galicia, L.; Lisek, J.; Cairns, J.; Tiessen, A.; Araus, J.L.; Palacios-Rojas, N.; Fernie, A.R. Metabolic and phenotypic responses of greenhouse-grown maize hybrids to experimentally controlled drought stress. *Mol. Plant* 2012, 5, 401–417.
142. Silvente, S.; Sobolev, A.P.; Lara, M. Metabolite adjustments in drought tolerant and sensitive soybean genotypes in response to water stress. *PLoS ONE* 2012, 7, e38554.
143. Degenkolbe, T.; Do, P.T.; Kopka, J.; Zuther, E.; Hinch, D.K.; Köhl, K.I. Identification of drought tolerance markers in a diverse population of rice cultivars by expression and metabolite profiling. *PLoS ONE* 2013, 8, e63637.
144. Guo, R.; Yang, Z.; Li, F.; Yan, C.; Zhong, X.; Liu, Q.; Xia, X.; Li, H.; Zhao, L. Comparative metabolic responses and adaptive strategies of wheat (*Triticum aestivum*) to salt and alkali stress. *BMC Plant Biol.* 2015, 15, 170.
145. Wu, D.; Cai, S.; Chen, M.; Ye, L.; Chen, Z.; Zhang, H.; Dai, F.; Wu, F.; Zhang, G. Tissue metabolic responses to salt stress in wild and cultivated barley. *PLoS ONE* 2013, 8, e55431.
146. Gupta, P.; De, B. Metabolomics analysis of rice responses to salinity stress revealed elevation of serotonin, and gentisic acid levels in leaves of tolerant varieties. *Plant Signal Behav.* 2017, 12, e1335845.
147. Shelden, M.C.; Dias, D.A.; Jayasinghe, N.S.; Bacic, A.; Roessner, U. Root spatial metabolite profiling of two genotypes of barley (*Hordeum vulgare* L.) reveals differences in response to short-term salt stress. *J. Exp. Bot.* 2016, 67, 3731–3745.
148. Kurotani, K.-i.; Hayashi, K.; Hatanaka, S.; Toda, Y.; Ogawa, D.; Ichikawa, H.; Ishimaru, Y.; Tashita, R.; Suzuki, T.; Ueda, M. Elevated levels of CYP94 family gene expression alleviate the

- jasmonate response and enhance salt tolerance in rice. *Plant Cell Physiol.* 2015, 56, 779–789.
149. Borrelli, G.M.; Fragasso, M.; Nigro, F.; Platani, C.; Papa, R.; Beleggia, R.; Trono, D. Analysis of metabolic and mineral changes in response to salt stress in durum wheat (*Triticum turgidum* ssp. *durum*) genotypes, which differ in salinity tolerance. *Plant Physiol. Biochem.* 2018, 133, 57–70.
 150. Zörb, C.; Geilfus, C.-M.; Mühling, K.H.; Ludwig-Müller, J. The influence of salt stress on ABA and auxin concentrations in two maize cultivars differing in salt resistance. *J. Plant Physiol.* 2013, 170, 220–224.
 151. Barding, G.A., Jr.; Béni, S.; Fukao, T.; Bailey-Serres, J.; Larive, C.K. Comparison of GC-MS and NMR for metabolite profiling of rice subjected to submergence stress. *J. Proteome Res.* 2012, 12, 898–909.
 152. Coutinho, I.D.; Henning, L.M.M.; Döpp, S.A.; Nepomuceno, A.; Moraes, L.A.C.; Marcolino-Gomes, J.; Richter, C.; Schwalbe, H.; Colnago, L.A. Flooded soybean metabolomic analysis reveals important primary and secondary metabolites involved in the hypoxia stress response and tolerance. *Environ. Exp. Bot.* 2018, 153, 176–187.
 153. Herzog, M.; Fukao, T.; Winkel, A.; Konnerup, D.; Lamichhane, S.; Alpuerto, J.B.; Hasler-Sheetal, H.; Pedersen, O. Physiology, gene expression, and metabolome of two wheat cultivars with contrasting submergence tolerance. *Plant Cell Environ.* 2018, 41, 1632–1644.
 154. Locke, A.M.; Barding, G.A., Jr.; Sathnur, S.; Larive, C.K.; Bailey-Serres, J. Rice SUB1A constrains remodelling of the transcriptome and metabolome during submergence to facilitate post-submergence recovery. *Plant Cell Environ.* 2018, 41, 721–736.
 155. Luengwilai, K.; Saltveit, M.; Beckles, D.M. Metabolite content of harvested Micro-Tom tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit is altered by chilling and protective heat-shock treatments as shown by GC-MS metabolic profiling. *Postharvest Biol. Technol.* 2012, 63, 116–122.

156. Wang, X.; Hou, L.; Lu, Y.; Wu, B.; Gong, X.; Liu, M.; Wang, J.; Sun, Q.; Vierling, E.; Xu, S. Metabolic adaptation of wheat grain contributes to a stable filling rate under heat stress. *J. Exp. Bot.* 2018, 69, 5531–5545.
157. Chebrolu, K.K.; Fritschi, F.B.; Ye, S.; Krishnan, H.B.; Smith, J.R.; Gillman, J.D. Impact of heat stress during seed development on soybean seed metabolome. *Metabolomics* 2016, 12, 28.
158. Qi, X.; Xu, W.; Zhang, J.; Guo, R.; Zhao, M.; Hu, L.; Wang, H.; Dong, H.; Li, Y. Physiological characteristics and metabolomics of transgenic wheat containing the maize C 4 phosphoenolpyruvate carboxylase (PEPC) gene under high temperature stress. *Protoplasma* 2017, 254, 1017–1030.
159. Paupière, M.J.; Müller, F.; Li, H.; Rieu, I.; Tikunov, Y.M.; Visser, R.G.; Bovy, A.G. Untargeted metabolomic analysis of tomato pollen development and heat stress response. *Plant Reprod.* 2017, 30, 81–94.
160. Sun, C.; Gao, X.; Li, M.; Fu, J.; Zhang, Y. Plastic responses in the metabolome and functional traits of maize plants to temperature variations. *Plant Biol.* 2016, 18, 249–261.
161. Ibarra, A.A.G.; Wrobel, K.; Barrientos, E.Y.; Escobosa, A.R.C.; Corona, J.F.G.; Donis, I.E.; Wrobel, K. Impact of Cr (VI) on the oxidation of polyunsaturated fatty acids in *Helianthus annuus* roots studied by metabolomic tools. *Chemosphere* 2019, 220, 442–451.
162. Manivasagaperumal, R.; Balamurugan, S.; Thiyagarajan, G.; Sekar, J. Effect of zinc on germination, seedling growth and biochemical content of cluster bean (*Cyamopsis tetragonoloba* (L.) Taub). *Curr. Bot.* 2011, 2, 11–15.
163. Jahangir, M.; Abdel-Farid, I.B.; Choi, Y.H.; Verpoorte, R. Metal ion-inducing metabolite accumulation in *Brassica rapa*. *J. Plant Physiol.* 2008, 165, 1429–1437.
164. Foito, A.; Byrne, S.L.; Hackett, C.A.; Hancock, R.D.; Stewart, D.; Barth, S. Short-term response in leaf metabolism of perennial ryegrass (*Lolium perenne*) to alterations in nitrogen supply. *Metabolomics* 2013, 9, 145–156.
165. Comadira, G.; Rasool, B.; Karpinska, B.; Morris, J.; Verrall, S.R.; Hedley, P.E.; Foyer, C.H.; Hancock, R.D. Nitrogen deficiency in

- barley (*Hordeum vulgare*) seedlings induces molecular and metabolic adjustments that trigger aphid resistance. *J. Exp. Bot.* 2015, 66, 3639–3655.
166. Heyneke, E.; Watanabe, M.; Erban, A.; Duan, G.; Buchner, P.; Walther, D.; Kopka, J.; Hawkesford, M.J.; Hoefgen, R. Characterization of the wheat leaf metabolome during grain filling and under varied N-supply. *Front. Plant Sci.* 2017, 8, 2048.
 167. Hoefgen, R.; Nikiforova, V.J. Metabolomics integrated with transcriptomics: Assessing systems response to sulfur-deficiency stress. *Physiol. Plant.* 2008, 132, 190–198.
 168. Ghosson, H.; Schwarzenberg, A.; Jamois, F.; Yvin, J.C. Simultaneous untargeted and targeted metabolomics profiling of underivatized primary metabolites in sulfur-deficient barley by ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole/time-of-flight mass spectrometry. *Plant Methods* 2018, 14, 62.
 169. Theodorou, M.E.; Plaxton, W.C. Metabolic adaptations of plant respiration to nutritional phosphate deprivation. *Plant Physiol.* 1993, 101, 339–344.
 170. Huang, C.Y.; Roessner, U.; Eickmeier, I.; Genc, Y.; Callahan, D.L.; Shirley, N.; Langridge, P.; Bacic, A. Metabolite profiling reveals distinct changes in carbon and nitrogen metabolism in phosphate-deficient barley plants (*Hordeum vulgare* L.). *Plant Cell Physiol.* 2008, 49, 691–703.
 171. Hernández, G.; Valdés-López, O.; Ramírez, M.; Goffard, N.; Weiller, G.; Aparicio-Fabre, R.; Fuentes, S.I.; Erban, A.; Kopka, J.; Udvardi, M.K. Global changes in the transcript and metabolic profiles during symbiotic nitrogen fixation in phosphorus-stressed common bean plants. *Plant Physiol.* 2009, 151, 1221–1238.
 172. Zhang, Y.; Ma, X.M.; Wang, X.C.; Liu, J.H.; Huang, B.Y.; Guo, X.Y.; Xiong, S.P.; La, G.X. UPLC-QTOF analysis reveals metabolomic changes in the flag leaf of wheat (*Triticum aestivum* L.) under low-nitrogen stress. *Plant Physiol. Biochem.* 2017, 111, 30–38.

173. Allwood, J.W.; Ellis, D.I.; Goodacre, R. Metabolomic technologies and their application to the study of plants and plant–host interactions. *Physiol. Plant.* 2008, 132, 117–135.
174. Tenenboim, H.; Brotman, Y. Omic relief for the biotically stressed: Metabolomics of plant biotic interactions. *Trends Plant Sci.* 2016, 21, 781–791.
175. Balmer, D.; Flors, V.; Glauser, G.; Mauch-Mani, B. Metabolomics of cereals under biotic stress: Current knowledge and techniques. *Front. Plant Sci.* 2013, 4, 82.
176. Niculaes, C.; Abramov, A.; Hannemann, L.; Frey, M. Plant protection by benzoxazinoids – Recent insights into biosynthesis and function. *Agronomy* 2018, 8, 143.
177. Lenk, M.; Wenig, M.; Mengel, F.; Häußler, F.; Vlot, A. *Arabidopsis thaliana* immunity-related compounds modulate disease susceptibility in barley. *Agronomy* 2018, 8, 142.
178. López-Gresa, M.P.; Maltese, F.; Bellés, J.M.; Conejero, V.; Kim, H.K.; Choi, Y.H.; Verpoorte, R. Metabolic response of tomato leaves upon different plant–pathogen interactions. *Phytochem. Anal. Int. J. Plant Chem. Biochem. Tech.* 2010, 21, 89–94.
179. Gunnaiah, R.; Kushalappa, A.C.; Duggavathi, R.; Fox, S.; Somers, D.J. Integrated metabolo-proteomic approach to decipher the mechanisms by which wheat QTL (Fhb1) contributes to resistance against *Fusarium graminearum*. *PLoS ONE* 2012, 7, e40695.
180. Cuperlovic-Culf, M.; Wang, L.; Forseille, L.; Boyle, K.; Merkley, N.; Burton, I.; Fobert, P.R. Metabolic biomarker panels of response to fusarium head blight infection in different wheat varieties. *PLoS ONE* 2016, 11, e0153642.
181. Agarrwal, R.; Bentur, J.S.; Nair, S. Gas chromatography mass spectrometry based metabolic profiling reveals biomarkers involved in rice-gall midge interactions. *J. Integr. Plant Biol.* 2014, 56, 837–848.
182. Sana, T.R.; Fischer, S.; Wohlgemuth, G.; Katrekar, A.; Jung, K.H.; Ronald, P.C.; Fiehn, O. Metabolomic and transcriptomic analysis of the rice response to the bacterial blight pathogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Metabolomics* 2010, 6, 451–465.

183. Jones, O.A.; Maguire, M.L.; Griffin, J.L.; Jung, Y.-H.; Shibato, J.; Rakwal, R.; Agrawal, G.K.; Jwa, N.-S. Using metabolic profiling to assess plant-pathogen interactions: An example using rice (*Oryza sativa*) and the blast pathogen *Magnaporthe oryzae*. *Eur. J. Plant Pathol.* 2011, 129, 539–554.
184. Vasmatkar, P.; Kaur, K.; Pannu, P.P.S.; Kaur, G.; Kaur, H. Unraveling the metabolite signatures of maize genotypes showing differential response towards southern corn leaf blight by ¹H-NMR and FTIR spectroscopy. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 2019, 108, 101441.
185. Guo, J.; Qi, J.; He, K.; Wu, J.; Bai, S.; Zhang, T.; Zhao, J.; Wang, Z. The Asian corn borer *Ostrinia furnacalis* feeding increases the direct and indirect defence of mid-whorl stage commercial maize in the field. *Plant Biotechnol. J.* 2019, 17, 88–102.
186. Peng, L.; Zhao, Y.; Wang, H.; Zhang, J.; Song, C.; Shangguan, X.; Zhu, L.; He, G. Comparative metabolomics of the interaction between rice and the brown planthopper. *Metabolomics* 2016, 12, 132.
187. Liu, Q.; Wang, X.; Tzin, V.; Romeis, J.; Peng, Y.; Li, Y. Combined transcriptome and metabolome analyses to understand the dynamic responses of rice plants to attack by the rice stem borer *Chilo suppressalis* (Lepidoptera: Crambidae). *BMC Plant Biol.* 2016, 16, 259.
188. Shavit, R.; Batyrshina, Z.S.; Dotan, N.; Tzin, V. Cereal aphids differently affect benzoxazinoid levels in durum wheat. *PLoS ONE* 2018, 13, e0208103.
189. Asaduzzaman, M.; Pratley, J.E.; An, M.; Luckett, D.J.; Lemerle, D. Metabolomics differentiation of canola genotypes: Toward an understanding of canola allelochemicals. *Front. Plant Sci.* 2015, 5, 765.
190. Mwendwa, J.M.; Weston, P.A.; Fomsgaard, I.; Laursen, B.B.; Brown, W.B.; Wu, H.; Rebetzke, G.; Quinn, J.C.; Weston, L.A. Metabolic Profiling for Benzoxazinoids in Weed-Suppressive and Early Vigour Wheat Genotypes. In *Proceedings of the 20th Australasian weeds Conference, Perth, Western Australia, 11–15 September 2016; Volume 11, pp. 353–357.*

191. Mwendwa, J.M.; Brown, W.; Haque, K.S.; Heath, G.; Weston, L. Mechanisms of Weed Suppression by Wheat Genotypes. In GRDC Grains Research Update; Grain Research and Development Cooperation: Canberra, Australia, 2016; pp. 1-17.
192. Latif, S.; Gurusinghe, S.; Weston, P.A.; Quinn, J.C.; Piltz, J.W.; Weston, L.A. Metabolomic approaches for the identification of flavonoids associated with weed suppression in selected Hardseeded annual pasture legumes. *Plant Soil* 2019, 1-20.
193. Johns, C.W.; Lee, A.B.; Springer, T.I.; Roskopf, E.N.; Hong, J.C.; Turechek, W.; Kokalis-Burelle, N.; Finley, N.L. Using NMR-based metabolomics to monitor the biochemical composition of agricultural soils: A pilot study. *Eur. J. Soil Biol.* 2017, 83, 98-105.
194. Monreal, C.M.; Schnitzer, M.I. Labile organic matter in soil solution: II. Separation and identification of metabolites from plant-microbial communication in soil solutions of wheat rhizospheres. *Labile Org. Matter SSSA. SPEC. PUB.* 2015, 62, 173-194.
195. Hayden, H.L.; Rochfort, S.J.; Ezernieks, V.; Savin, K.W.; Mele, P.M. Metabolomics approaches for the discrimination of disease suppressive soils for *Rhizoctonia solani* AG8 in cereal crops using ¹H NMR and LC-MS. *Sci. Total Environ.* 2019, 651, 1627-1638.
196. Rochfort, S.; Ezernieks, V.; Mele, P.; Kitching, M. NMR metabolomics for soil analysis provide complementary, orthogonal data to MIR and traditional soil chemistry approaches—A land use study. *Magn. Reson. Chem.* 2015, 53, 719-725.
197. Guijas, C.; Montenegro-Burke, J.R.; Warth, B.; Spilker, M.E.; Siuzdak, G. Metabolomics activity screening for identifying metabolites that modulate phenotype. *Nat. Biotechnol.* 2018, 36, 316.
198. Fernie, A.R.; Schauer, N. Metabolomics-assisted breeding: A viable option for crop improvement? *Trends Genet.* 2009, 25, 39-48.

199. Chen, W.; Gao, Y.; Xie, W.; Gong, L.; Lu, K.; Wang, W.; Li, Y.; Liu, X.; Zhang, H.; Dong, H. Genome-wide association analyses provide genetic and biochemical insights into natural variation in rice metabolism. *Nat. Genet.* 2014, 46, 714.
200. Gong, L.; Chen, W.; Gao, Y.; Liu, X.; Zhang, H.; Xu, C.; Yu, S.; Zhang, Q.; Luo, J. Genetic analysis of the metabolome exemplified using a rice population. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 2013, 110, 20320–20325.
201. Wen, W.; Li, K.; Alseekh, S.; Omranian, N.; Zhao, L.; Zhou, Y.; Xiao, Y.; Jin, M.; Yang, N.; Liu, H.; et al. Genetic determinants of the network of primary metabolism and their relationships to plant performance in a maize recombinant inbred line population. *Plant Cell* 2015, 27, 1839–1856.
202. Wen, W.; Liu, H.; Zhou, Y.; Jin, M.; Yang, N.; Li, D.; Luo, J.; Xiao, Y.; Pan, Q.; Tohge, T.; et al. Combining quantitative genetics approaches with regulatory network analysis to dissect the complex metabolism of the maize kernel. *Plant Physiol.* 2016, 170, 136–146.
203. Scossa, F.; Brotman, Y.; e Lima, F.d.A.; Willmitzer, L.; Nikoloski, Z.; Tohge, T.; Fernie, A.R. Genomics-based strategies for the use of natural variation in the improvement of crop metabolism. *Plant Sci.* 2016, 242, 47–64.
204. Beleggia, R.; Rau, D.; Laidò, G.; Platani, C.; Nigro, F.; Fragasso, M.; De Vita, P.; Scossa, F.; Fernie, A.R.; Nikoloski, Z. Evolutionary metabolomics reveals domestication-associated changes in tetraploid wheat kernels. *Mol. Biol. Evol.* 2016, 33, 1740–1753.
205. Toubiana, D.; Semel, Y.; Tohge, T.; Beleggia, R.; Cattivelli, L.; Rosental, L.; Nikoloski, Z.; Zamir, D.; Fernie, A.R.; Fait, A. Metabolic profiling of a mapping population exposes new insights in the regulation of seed metabolism and seed, fruit, and plant relations. *PLoS Genet.* 2012, 8, e1002612.
206. Carreno-Quintero, N.; Acharjee, A.; Maliepaard, C.; Bachem, C.W.; Mumm, R.; Bouwmeester, H.; Visser, R.G.; Keurentjes, J.J. Untargeted metabolic quantitative trait loci analyses reveal a relationship between primary metabolism and potato tuber quality. *Plant Physiol.* 2012, 158, 1306–1318.

207. Matsuda, F.; Okazaki, Y.; Oikawa, A.; Kusano, M.; Nakabayashi, R.; Kikuchi, J.; Yonemaru, J.I.; Ebana, K.; Yano, M.; Saito, K. Dissection of genotype-phenotype associations in rice grains using metabolome quantitative trait loci analysis. *Plant J.* 2012, 70, 624-636.
208. Piasecka, A.; Sawikowska, A.; Kuczynska, A.; Ogrodowicz, P.; Mikolajczak, K.; Krystkowiak, K.; Gudys, K.; Guzy-Wrobel-ska, J.; Krajewski, P.; Kachlicki, P. Drought-related econdary metabolites of barley (*Hordeum vulgare* L.) leaves and their metabolomic quantitative trait loci. *Plant J.* 2017, 89, 898-913.
209. Templer, S.E.; Ammon, A.; Pscheidt, D.; Ciobotea, O.; Schuy, C.; McCollum, C.; Sonnewald, U.; Hanemann, A.; Förster, J.; Ordon, F.; et al. Metabolite profiling of barley flag leaves under drought and combined heat and drought stress reveals metabolic QTLs for metabolites associated with antioxidant defense. *J. Exp. Bot.* 2017, 68, 1697-1713.
210. Feng, J.; Long, Y.; Shi, L.; Shi, J.; Barker, G.; Meng, J. Characterization of metabolite quantitative trait loci and metabolic networks that control glucosinolate concentration in the seeds and leaves of *Brassica napus*. *New Phytol.* 2012, 193, 96-108.
211. Alseekh, S.; Tohge, T.; Wendenberg, R.; Scossa, F.; Omranian, N.; Li, J.; Kleessen, S.; Giavalisco, P.; Pleban, T.; Mueller-Roeber, B. Identification and mode of inheritance of quantitative trait loci for secondary metabolite abundance in tomato. *Plant Cell* 2015, 27, 485-512.
212. Alseekh, S.; Tong, H.; Scossa, F.; Brotman, Y.; Vigroux, F.; Tohge, T.; Ofner, I.; Zamir, D.; Nikoloski, Z.; Fernie, A.R. Canalization of tomato fruit metabolism. *Plant Cell* 2017, 29, 2753-2765.
213. Hill, C.B.; Taylor, J.D.; Edwards, J.; Mather, D.; Langridge, P.; Bacic, A.; Roessner, U. Detection of QTL for metabolic and agronomic traits in wheat with adjustments for variation at genetic loci that affect plant phenology. *Plant Sci.* 2015, 233, 143-154.
214. Kazmi, R.H.; Willems, L.A.; Joosen, R.V.; Khan, N.; Ligterink, W.; Hilhorst, H.W. Metabolomic analysis of tomato seed germination. *Metabolomics* 2017, 13, 145.

215. Tian, F.; Bradbury, P.J.; Brown, P.J.; Hung, H.; Sun, Q.; Flint-Garcia, S.; Rocheford, T.R.; McMullen, M.D.; Holland, J.B.; Buckler, E.S. Genome-wide association study of leaf architecture in the maize nested association mapping population. *Nat. Genet.* 2011, 43, 159.
216. Wen, W.; Li, D.; Li, X.; Gao, Y.; Li, W.; Li, H.; Liu, J.; Liu, H.; Chen, W.; Luo, J. Metabolome-based genome-wide association study of maize kernel leads to novel biochemical insights. *Nat. Commun.* 2014, 5, 3438.
217. Dong, X.; Gao, Y.; Chen, W.; Wang, W.; Gong, L.; Liu, X.; Luo, J. Spatiotemporal distribution of phenolamides and the genetics of natural variation of hydroxycinnamoyl spermidine in rice. *Mol. Plant.* 2015, 8, 111-121.
218. Sotelo, T.; Soengas, P.; Velasco, P.; Rodríguez, V.M.; Carrea, M.E. Identification of metabolic QTLs and candidate genes for glucosinolate synthesis in Brassica oleracea leaves, seeds and flower buds. *PLoS ONE* 2014, 9, e91428.
219. Chen, W.; Wang, W.; Peng, M.; Gong, L.; Gao, Y.; Wan, J.; Wang, S.; Shi, L.; Zhou, B.; Li, Z. Comparative and parallel genome-wide association studies for metabolic and agronomic traits in cereals. *Nat. Commun.* 2016, 7, 12767.
220. Peng, M.; Shahzad, R.; Gul, A.; Subthain, H.; Shen, S.; Lei, L.; Zheng, Z.; Zhou, J.; Lu, D.; Wang, S. Differentially evolved glucosyltransferases determine natural variation of rice flavone accumulation and UV-tolerance. *Nat. Commun.* 2017, 8, 1975.
221. Matsuda, F.; Nakabayashi, R.; Yang, Z.; Okazaki, Y.; Yonemaru, J.; Ebana, K.; Yano, M.; Saito, K. Metabolome-genome-wide association study (mGWAS) dissects genetic architecture for generating natural variation in rice secondary metabolism. *Plant J.* 2014, 81, 13-23.
222. Riedelsheimer, C.; Lisec, J.; Czedik-Eysenberg, A.; Sulpice, R.; Flis, A.; Grieder, C.; Altmann, T.; Stitt, M.; Willmitzer, L.; Melchinger, A.E. Genome-wide association mapping of leaf metabolic profiles for dissecting complex traits in maize. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2012, 109, 8872-8877.

223. Li, H.; Peng, Z.; Yang, X.; Wang, W.; Fu, J.; Wang, J.; Han, Y.; Chai, Y.; Guo, T.; Yang, N.; et al. Genome-wide association study dissects the genetic architecture of oil biosynthesis in maize kernels. *Nat. Genet.* 2013, 45, 43–50.
224. Matros, A.; Liu, G.; Hartmann, A.; Jiang, Y.; Zhao, Y.; Wang, H.; Ebmeyer, E.; Korzun, V.; Schachschneider, R.; Kazman, E.; et al. Genome-metabolite associations revealed low heritability, high genetic complexity, and causal relations for leaf metabolites in winter wheat (*Triticum aestivum*). *J. Exp. Bot.* 2016, 68, 415–428.
225. Lipka, A.E.; Gore, M.A.; Magallanes-Lundback, M.; Mesberg, A.; Lin, H.; Tiede, T.; Chen, C.; Buell, C.R.; Buckler, E.S.; Rocheford, T.; et al. Genome-wide association study and pathway-level analysis of tocochromanol levels in maize grain. *G3 Genes Genomes Genet.* 2013, 3, 1287–1299.
226. Owens, B.F.; Lipka, A.E.; Magallanes-Lundback, M.; Tiede, T.; Diepenbrock, C.H.; Kandianis, C.B.; Kim, E.; Cepela, J.; Mateos-Hernandez, M.; Buell, C.R.; et al. A foundation for provitamin A biofortification of maize: Genome-wide association and genomic prediction models of carotenoid levels. *Genetics* 2014, 198, 1699–1716.
227. Sauvage, C.; Segura, V.; Bauchet, G.; Stevens, R.; Do, P.T.; Nikoloski, Z.; Fernie, A.R.; Causse, M. Genome-wide association in tomato reveals 44 candidate loci for fruit metabolic traits. *Plant Physiol.* 2014, 165, 1120–1132.
228. Razzaq, A.; Saleem, F.; Kanwal, M.; Mustafa, G.; Yousaf, S.; Imran Arshad, H.M.; Hameed, M.K.; Khan, M.S.; Joyia, F.A. Modern Trends in Plant Genome Editing: An Inclusive Review of the CRISPR/Cas9 Toolbox. *Int. J. Mol. Sci.* 2019, 20, 4045.

DAFTAR ISTILAH / GLOSARIUM

| | |
|-----------|---|
| CCA | : Canonical Correlation Analysis |
| CE-MS | : Capillary Electrophoresis-Mass Spectrometry |
| CRISPR | : Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats |
| DESI | : Desorption Electrospray Ionization Mass Spectrometry |
| DFI | : Direct Flow Injection |
| DIMS | : Direct Infusion Mass Spectrometry |
| EI | : Electronic Impact |
| ESI | : Electrospray Ionization |
| FI-ICR-MS | : Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry |
| GBS | : Genotype-Based Sequencing |
| GC-MS | : Chromatography-Mass Spectrometry |
| HPLC | : High Performance Liquid Chromatography |
| HPTLC | : High-Performance Thin-Layer Chromatography |
| HRMS | : High-Resolution Mass Spectrometry |
| LC-MS | : Liquid Chromatography Mass-Spectroscopy |
| LMD | : Laser Microdissection |
| MAE | : Microwave-Assisted Extraction |
| MALDI | : Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization |
| NMR | : Non-Destructive Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy |
| PCA | : Principal Component Analysis |
| PLS-DA | : Partial Least Squares-Discriminant Analysis |
| ROS | : Reactive Oxygen Species |
| SPME | : Solid Phase Microextraction |
| UPLC | : Ultra-Performance Liquid Chromatography |
| WUE | : Water Use Efficiency |

C

CCA, 16
CE-MS, 8
CRISPR, 57

D

DESI, 12
DFI, 2
DIMS, 8

E

EI, 10, 12

F

FE-ICR-MS, 10

G

GBS, 7
GC-MS, 1,4

H

HPLC, 1,11
HPTLC, 8
HRMS, 8

L

LC-MS, 1,4,8,12
LMD, 14

M

MAE, 14
MALDI, 12

N

NMR, 1,8,9

P

PCA, 17,33
PLS-DA, 17,19

R

ROS, 6

S

SPME, 14

U

UPLC, 8,11

W

WUE, 25

BIOGRAFI PENULIS 1



Dr. Ir. Sholeh Avivi, MSi. merupakan putra pertama pengasuh Pondok Pesantren Putri El-Aniesah Kaliwates Jember dari pasangan KH. A. Fauzan Shofwan dan Ibu Nyai Hj. Lilik Maslihah. Lahir di Lamongan pada tanggal 21 Juli 1969. Pendidikan Madrasah di MIN PGAN 6Th Jember (1982), SMP A. Wahid Hasyim Tebuireng Jombang (1985) dan SMAN 1 Jember (1988). Pendidikan S1 (1993), S2 (1995) dan S3 (2000), di selesaikan dari Institut Pertanian Bogor.

Menikah dengan Nurul Muanasah SAg., dan di karuniai 4 orang anak. Bidang riset yang di tekuni adalah Pemuliaan Tanaman dengan memanfaatkan Bioteknologi Rekayasa Genetika. Penelitian Disertasi menghasilkan tanaman transgenik tembakau dan kacang tanah yang mengandung gen PSTv. Sebagian penelitian Disertasi di kerjakan penulis di Queensland Agricultural Biotechnology Centre, Universty of Queensland, Australia pada tahun 1998. Penulis di terima mengabdikan di Program Studi Agronomi Fakultas pertanian Universitas Jember pada tahun 2000. Minat meneliti bidang Rekayasa Genetika lebih intens di lakukan saat bergabung di Center for Development of Advances Sciences and Technology (CDAST) UNEJ, meneliti tebu toleran genangan (Grant Kemenristek DIKTI 2014-2016) dan singkong toleran cekaman air (Grant Kemenristek DIKTI 2016-2018). "Training on The Development and Implementation of Genome Editing in Plant" di selesaikan penulis pada tahun 2018 di Gyeongsang National University (GNU), Korea Selatan. Mulai tahun 2019 dengan memanfaatkan teknologi Genom Editing penulis meneliti tomat tinggi sucrose (Grant Penguatan Program IDB, 2019) bekerjasama dengan Prof. Jae-Yean Kim, GNU. Jabatan penulis di mulai dari menjadi ketua Center for Bisafety (C-Bios) tahun 2002-2005, ketua lab Genetika dan Pemuliaan tanaman pada tahun 2005-2006, di lanjutkan menjadi sekretaris PS Magister Agronomi tahun 2007-2008. Amanah Sekretaris Lembaga Pengembangan Pembelajaran dan Penjaminan Mutu (LP3M) UNEJ diemban tahun 2017-2021. Selanjutnya periode 2021-2025 memperoleh amanah menjadi Wakil Dekan 3 Fakultas Pertanian UNEJ. Buku "Membangun Negeri dengan Singkong (Building The Country With Cassava)" selesai tahun 2018. Buku "Bioteknologi-Rekayasa Genetika Tanaman" dan Buku "Pemuliaan Tanaman: Aplikasi dan Prospek" diselesaikan pada tahun 2019. Buku "Wawasan Lingkungan dan Pertanian Industrial", Buku "Rekayasa Gen dan Bioinformatika", Buku "Rekombinasi DNA Transformasi Gen Metode Agrobacterium dan Bombardment", dan Buku "Genom Editing Analisa

DNA & Protein” diselesaikan pada tahun 2020. Buku “Fisiologi Benih Tanaman Perkebunan”, Buku “Fisiologi & Metabolisme Benih” dan Buku “Bioinformatika & Biostatistika Manfaatnya dalam Penelitian Bioteknologi” diselesaikan pada tahun 2021. Buku “Metabolomik dan Manfaatnya untuk Pemuliaan Tanaman” diselesaikan pada Tahun 2022.



BIOGRAFI PENULIS 2



Dwi Mai Abdul Imam Buqori, SP, MP., mahasiswa Program Studi Doktor Ilmu Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Jember Tahun 2021, lahir dari pasangan Sugiarjo dan Junaidah di Mojokerto, Jawa Timur, 21 Mei 1989. Pendidikan terakhir S2 Magister Pertanian (Prodi Agronomi) di Fakultas Pertanian Universitas Jember, Indonesia, tahun 2020/2021. Bidang Riset yang ditekuni adalah Fisiologi dan Ekologi Tanaman. Topik riset doktoral terkait topik interaksi tanaman – mikroba tanah, khususnya untuk peningkatan ketahanan tanaman dibawah kondisi cekaman lingkungan. Buku “Metabolomik dan Manfaatnya untuk Pemuliaan Tanaman” diselesaikan pada Tahun 2022.