

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Produksi singkong di Daerah Istimewa Yogyakarta dari tahun 2012-2016 mengalami perubahan yang fluktuatif. Rata-rata pertumbuhan produktivitas singkong dari tahun 2012 hingga tahun 2016 adalah sebesar 12,42 % (Badan Pusat Statistik Provinsi DIY, 2016). Gunungkidul merupakan kabupaten di DIY sebagai produsen terbesar dengan komoditas utama singkong dikarenakan sering ditanam masyarakat dan menjadi andalan pangan lokal (pokok). Data Statistik Tanaman Pangan Kabupaten Gunungkidul 2012 menyebutkan luas lahan singkong tahun 2012 sebesar 99,59 ribu Ha, produksi mencapai 101,24 ribu ton dengan tingkat produktivitas sangat rendah yaitu 139,19 kw/Ha (Badan Pusat Statistik Kab. Gunungkidul, 2012). Padahal, produktivitas singkong di daerah lain dapat mencapai 300-400 kw/Ha (Sarjiyah, *et al.*, 2016). Sehingga dapat dikatakan bahwa produktivitas di kabupaten Gunungkidul perlu ditingkatkan.

Kabupaten Gunungkidul memiliki kawasan karst yang umumnya kurang subur untuk dijadikan lahan pertanian. Rata-rata curah hujan tahun 2010 sebesar 1954 mm/tahun. Suhu udara rata-rata sebesar 27,7°C dengan suhu minimum sebesar 23,2°C dan suhu maksimum sebesar 32,4°C. Kelembaban nisbi berkisar antara 80-85%. Kebutuhan air untuk konsumsi dan irigasi pertanian belum cukup terpenuhi oleh air dekat permukaan (Pemkab Gunungkidul, 2015). Selain itu, faktor lain yang juga memicu rendahnya produktivitas singkong di wilayah Gunungkidul adalah penggunaan bahan tanam yang berkualitas rendah sehingga mempengaruhi performa pertumbuhannya saat telah ditanam (Sarjiyah, *et al.*, 2016). Oleh karena itu, perlu dilakukan suatu upaya untuk meningkatkan produktivitas singkong dari bahan tanam sesuai karakteristik lahan tidak subur di kabupaten Gunungkidul.

Sebagian besar petani singkong di Gunungkidul membudidayakan berbagai varietas lokal, diantaranya varietas Gatotkaca, Kirik dan Pandesi Hijau (Hastutik, 2017). Ketiga varietas singkong ini termasuk ke dalam kategori singkong pahit yang umumnya digunakan sebagai bahan baku *mocaf* (Santoso, 2015). Karakteristik ketiga varietas lokal ini dalam hal merespon kondisi kekeringan di lahan pertanamannya belum banyak dipelajari sehingga belum diketahui seberapa besar level ketahanan ketiga varietas ini terhadap kondisi kekeringan tersebut.

Respon suatu tanaman terhadap satu kondisi lingkungan tertentu dapat diamati, salah satunya secara molekuler dengan mendeteksi ekspresi dari gen-gen yang bertanggung jawab dalam merespon kondisi lingkungan tersebut (Beyene, *et al.*, 2013). Berkaitan dengan respon terhadap cekaman kekeringan, salah satu gen yang terlibat adalah gen *pyrroline-5-carboxylate synthetase* (P5CS). Gen ini diketahui berhubungan dengan metabolisme biosintesis pati singkong dan telah digunakan untuk merekayasa padi yang toleran terhadap kekeringan (Zhu *et al.*, 1998). Gen P5CS terdeteksi pada singkong varietas Nyalanda saat kondisi cekaman kekeringan (Turyagyenda, 2013). Informasi mengenai deteksi ekspresi gen P5CS ini menarik untuk diteliti, khususnya dalam rangka mengetahui apakah gen P5CS yang bertanggung jawab pada kondisi cekaman kekeringan pada tanaman singkong varietas lokal Gunungkidul.

Sebelum dilakukan deteksi ekspresi gen, perlu dilakukan isolasi RNA. Tujuan isolasi RNA untuk memisahkan RNA dengan zat lain seperti DNA, polisakarida, protein, dan lipid (Dale and Schantz, 2002). RNA relatif tidak stabil dan mudah rusak terutama oleh RNase yang merupakan suatu molekul yang sangat stabil, tidak membutuhkan kofaktor, sangat efektif pada konsentrasi rendah dan banyak terdapat pada debu dan kulit manusia (Ornela, 2020). Perlu dilakukan metode yang benar agar isolasi RNA tidak terkontaminasi serta dilakukan uji kualitas dan uji kuantitas hasil isolasi RNA untuk menjamin kemurnian total RNA (Bustin dan Nolan, 2004). Oleh karena itu, pentingnya melakukan isolasi RNA serta mengetahui kualitas dan kuantitas hasil isolasi RNA sehingga dapat diuji lanjut deteksi ekspresi gen P5CS.

Setelah mendapatkan kualitas dan kuantitas hasil isolasi RNA yang sesuai, selanjutnya dilakukan uji lanjut deteksi ekspresi gen dengan menggunakan metode *Reverse Transcriptase* PCR (RT-PCR). Gen P5CS memiliki hubungan biosintesis dengan proline sehingga terekspresinya gen P5CS menunjukkan gen berfungsi pada saat cekaman kekeringan (Turchetto-Zolet, *et al.*, 2009). Ekspresi gen P5CS pada kultivar tanaman singkong menunjukkan tanda bahwa kultivar tersebut memiliki kemampuan dalam merespon lingkungan ekstrim dengan tetap produksi pati. Dengan diketahuinya ekspresi gen P5CS, maka bisa dijadikan sebagai penanda molekuler untuk mencari profil tetua kultivar singkong dengan tujuan pemuliaan tanaman (McKersie, *et al.*, 1996; Zhu *et al.*, 1998). Oleh karena itu perlu dilakukan

penelitian mengenai deteksi ekspresi gen P5CS tanaman singkong varietas lokal Gunungkidul pada kondisi kekeringan.

B. Perumusan Masalah

1. Bagaimana kualitas dan kuantitas RNA hasil isolasi dari tanaman singkong var. Gatotkaca, Kirik dan Pandesi Hijau setelah diberikan perlakuan kondisi kekeringan (*drought stress*)?
2. Bagaimana deteksi ekspresi gen *Pyrroline-5-Carboxylate Synthetase* (P5CS) pada tanaman singkong (*Manihot esculenta* Crantz.) di bawah kondisi kekeringan (*drought stress*)?

C. Tujuan Penelitian

1. Mendapatkan kualitas dan kuantitas RNA hasil isolasi dari tanaman singkong varietas Gatotkaca, Kirik dan Pandesi Hijau setelah diberikan perlakuan kondisi kekeringan (*drought stress*).
2. Mendeteksi ekspresi gen *Pyrroline-5-Carboxylate Synthetase* (P5CS) pada tanaman singkong (*Manihot esculenta* Crantz.) pada kondisi kekeringan di berbagai level cekaman kekeringan (*drought stress*).