

## I. PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Tanaman singkong (*Manihot esculenta* Crantz.) merupakan salah satu tanaman pangan yang dapat tumbuh dengan kondisi lingkungan stress seperti cekaman kekeringan. Pada jenisnya terdapat 2 jenis singkong yaitu jenis singkong varietas manis dan varietas pahit. Untuk singkong varietas manis merupakan jenis singkong yang dapat diolah langsung sedangkan pada singkong varietas pahit biasanya digunakan untuk bahan baku industri. Varietas singkong Gatotkaca dan pandesi hijau merupakan varietas lokal Gunungkidul yang masuk dalam kategori varietas pahit yang menjadi bahan baku salah satunya yaitu tepung *mocaf*.

Tepung *mocaf* merupakan tepung berbahan baku singkong yang difermentasikan. Metode pembuatan tepung *mocaf* menggunakan proses fermentasi oleh bakteri asam laktat sebagai starter yang dapat menurunkan kadar HCN atau asam sianida pada singkong, serta memberi aroma dan cita rasa yang unik. Dengan menggunakan metode ini dapat menurunkan kadar HCN hingga 6 ppm dari maksimalnya 10 ppm sehingga aman untuk dikonsumsi (Lestari, 2016). Tepung yang dihasilkan juga mempunyai tekstur lebih halus dan lebih mekar pada produk olahannya, bahkan hampir menyamai tepung terigu (Yulifianti & Ginting, 2011). Tepung *mocaf* yang bahan baku utamanya dapat diperoleh secara lokal memiliki peluang untuk dimanfaatkan sebagai bahan baku produk olahan pangan yang dapat menggantikan tepung gandum. Pada beberapa produk pangan tertentu dapat menggantikan tepung gandum hingga 100% (Subagiyo dkk, 2011). Sehingga jika teknologi ini terus dikembangkan diharapkan akan dapat mengatasi serta menurunkan angka impor gandum.

Berdasarkan data BPS (Badan Pusat Statistik) tahun 2017 impor gandum terus mengalami peningkatan. Nilai berat bersih pada tahun 2015 sebanyak 7.412.019,4 kg, tahun 2016 sebanyak 10.534.672,3 kg dan pada tahun 2017 sebanyak 11.434.134,1 kg. Menurut ketua umum asosiasi pengusaha tepung terigu indonesia (aptindo) Franciscus Welirang menyampaikan bahwa kebutuhan impor gandum diperkirakan akan tumbuh 5% dari realisasi impor pada tahun lalu sebanyak 10,09 juta ton selaras dengan permintaan tepung terigu nasional yang juga

tumbuh sekitar 5%-6% (Andri, 2019). Menghadapi masalah ini banyak hal yang dapat dilakukan yaitu dengan melakukan deteksi ekspresi gen yang berperan dalam mempertahankan kondisi tanaman walaupun kondisi lingkungan tidak mendukung seperti kondisi cekaman kekeringan. Varietas Gatotkaca dan Pandesi Hijau adalah varietas lokal Gunungkidul, yang pada sebagian daerah tersebut memiliki lahan kering dengan kondisi hujan yang fluktuatif (Antriyandarti, 2019). Kebutuhan tanaman terhadap air yang tidak terpenuhi akan menyebabkan pertumbuhan pada tanaman menjadi tidak optimal begitu pula dengan produktivitasnya yang akan menurun (Mastur, 2016). Sehingga jika kondisi ini terus menerus berlangsung kebutuhan akan bahan baku singkong untuk membuat tepung *mocaf* akan terkendala. Sedangkan dalam pembuatan 1 kg tepung *mocaf* dibutuhkan 4-5 kg umbi basah singkong (Dian & Prasetiaswati, 2018).

Pada ilmu genetika, deteksi ekspresi gen merupakan suatu proses yang kompleks. Metode ini dapat dilakukan setelah tanaman diberi suatu perlakuan yang berbeda sehingga dapat diketahui ekspresi atau informasi yang diterima dan diekspresikan oleh tanaman. Suatu rangkaian proses tersebut digunakan informasi dari suatu gen untuk sintesis protein. Produk hasil sintesis tersebut dapat berupa protein dan juga gen penyandi non-protein (Budiani dkk, 2004). Salah satu gen penyandi pati yang dimaksud adalah gen GBF3 (*G-Box Binding factor 3*) dengan mode aktif *Transcription Factor and Regulates Alcohol Dehydrogenase (Adh)* Via ABA (asam absisat).

GBF3 (*G-Box Binding factor 3*) termasuk ke dalam G-group dari super famili bZIP transkripsi dan telah diketahui terikat secara khusus oleh urutan G-box dalam daerah promotor dari beberapa gen yang diatur berdasarkan lingkungan. Gen GBF merupakan salah satu gen yang menjadi kandidat dalam pengembangan ilmu serta peran gen tersebut dalam respons tanaman terhadap cekaman kekeringan. Faktor transkripsi dalam genetika merupakan sekelompok protein di dalam inti sel yang berperan dalam proses transkripsi kode genetik (kodon) dari DNA menjadi RNA. Dalam penelitian Lu *et al.* (1996) menyatakan bahwa G-Box pada *Arabidopsis thaliana* yang merupakan objek penelitiannya merupakan salah satu fungsi yang dibutuhkan untuk ekspresi utama dalam sel kultur dan bertanggung jawab pada ABA baik itu dalam kondisi yang dingin maupun kekurangan air (dehidrasi). Peran

G-Box pada *Arabidopsis* juga ditemukan serupa dengan respon ABA yang ada pada tanaman gandum. Sedangkan pada *Adh* (*alcohol dehydrogenase*) diinduksi oleh ABA karena keduanya saling berhubungan dengan meningkatnya level ABA dalam jaringan tanaman. Disimpulkan bahwa G-Box ini bertindak sebagai reseptor akhir dari sinyal ABA yang terlibat dalam ekspresi gen.

Pada umumnya ABA dikenal sebagai inhibitor pada tanaman saat tanaman mengalami kesulitan dan juga tekanan dari luar sebagai pengendali stress. Peran lainnya ABA juga dapat berperan sebagai mediator gen yang turut aktif dalam merespon dan menginduksi gen-gen yang mengatur perlindungan tanaman. Untuk mengetahui keberadaan dan ekspresi gen tersebut dapat dilakukan dengan metode *Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR). RT-PCR (*Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction*) merupakan teknik tahap transkrip balik yaitu molekul mRNA akan diubah menjadi molekul cDNA (*complementary RNA*) yang kemudian molekul cDNA pada *complementary* tersebut dijadikan template saat proses amplifikasi pada tahap awal PCR (*Polymerase Chain Reaction*) yang membawa suatu informasi atau pesan aktif mencakup pemetaan, menggambarkan kapan dan dimana gen tersebut terekspresi (Yusuf, 2010). Dengan latar belakang tersebut, maka perlu dilakukannya penelitian mengenai deteksi gen GBF3 dengan metode RT-PCR pada tanaman singkong varietas lokal Gunung Kidul yakni varietas Gatokaca dan Pandesi Hijau.

## **B. Perumusan Masalah**

1. Bagaimana kualitas dan kuantitas RNA hasil isolasi dari tanaman singkong varietas Gatokaca dan Pandesi Hijau?
2. Bagaimana hasil deteksi ekspresi gen *Transcription Factor and Regulates Alcohol Dehydrogenase (Adh)* Via ABA pada tanaman singkong varietas Gatokaca dan Pandesi Hijau pada berbagai level kelembaban tanah?

## **C. Tujuan Penelitian**

1. Mendapatkan kualitas dan kuantitas RNA hasil isolasi dari tanaman singkong varietas Gatokaca dan Pandesi Hijau.

2. Mendeteksi ekspresi gen *Transcription Factor and Regulates Alcohol Dehydrogenase (Adh)* Via ABA atau GBF3 tanaman singkong varietas Gatokaca dan Pandesi Hijau pada berbagai level kelembaban tanah.