

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Padi merupakan komoditas pangan pokok yang memiliki peran strategis dalam ketahanan pangan dan stabilitas ekonomi di Indonesia. Pemenuhan pangan yang cukup bagi seluruh penduduk merupakan salah satu indikator penting dalam ketahanan pangan. Indonesia yang menjadi penghasil beras terbesar di dunia, pada tahun 2023, memproduksi padi hingga 53,63 juta ton gabah kering giling (GKG). Namun, produksi tersebut mengalami penurunan sebesar 2.05% dibanding tahun 2022 (BPS, 2023). Hal tersebut terjadi karena peningkatan populasi, perubahan lingkungan serta penurunan kualitas dan kuantitas lahan pertanian sehingga dapat berpengaruh pada peningkatan ketahanan pangan di Indonesia. Diperlukan adanya upaya peningkatan produksi beras dengan meningkatkan penanaman padi secara merata di Indonesia dan studi genetik tanaman padi untuk mendukung ketahanan pangan (Suwarno, 2010).

Peningkatan produksi beras dapat dilakukan dengan penanaman padi secara merata dengan memanfaatkan lahan suboptimal (Miftahudin *et al.*, 2021). Lahan suboptimal adalah lahan yang kurang mendukung untuk pertumbuhan tanaman dengan karakteristik antara lain tanah dengan pH rendah seringkali mengandung alumunium yang tinggi, miskin hara, dan bahan organik. Hal tersebut dapat menjadi salah satu permasalahan serius pada budidaya tanaman padi terutama upaya peningkatan luas tanam padi (Utama, 2010). Pengembangan varietas padi toleran terhadap lahan suboptimal perlu didukung dengan informasi gen fungsional, gen toleransi alumunium, yang bertanggung jawab terhadap toleransi tanaman terhadap cekaman. Untuk itu diperlukan teknologi dalam studi gen toleransi alumunium untuk mengembangkan padi toleran cekaman alumunium.

Teknologi yang dapat digunakan dalam studi fungsi gen dan pengembangan varietas padi yaitu teknologi CRISPR/Cas9. *Clustered*

*Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats/Cas9* (CRISPR/Cas9) merupakan teknologi pengeditan gen paling populer dan efisien (Putri, 2019). Pengeditan gen adalah teknologi modifikasi sekuens DNA genom untuk menginduksi penyisipan, substitusi, dan penghapusan basa dalam genom (Li *et al.*, 2023). Gen *Aluminium Resistance Transcription factor 1* (*ART1*) diketahui sebagai gen pengatur utama dalam mekanisme tumbuhan terhadap aluminium. Pengeditan gen *ART1* menjadi mutan dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui dan mempelajari gen-gen toleran aluminium yang dikendalikan oleh *ART1* dan menjadikan tanaman sensitif terhadap aluminium, sehingga dapat diketahui pola ekspresi gen mutan toleran aluminium selain *ART1*. Ekspresi gen mutan dapat dianalisis dengan cara mengisolasi RNA dari protoplas transforman yang kemudian dilakukan sintesis cDNA dan RT-qPCR. Langkah awal penelitian ini dengan mengonstruksi vektor pRGEB32 rekombinan dan kemudian diintroduksi ke bakteri *E. coli* strain TOP10 untuk seleksi dan validasi sisipan sgRNA. Jika sisipan sudah berhasil maka dapat dilanjutkan dengan introduksi vektor rekombinan tersebut ke bakteri *A. tumefaciens* (Maharani, 2023).

Dalam teknologi pengeditan gen diperlukan pemandu untuk menuju gen yang ditarget yaitu sgRNA yang akan disisipkan ke dalam vektor pRGEB32. Vektor pRGEB32 merupakan vektor ekspresi mengandung CRISPR/Cas9 yang dikhususkan untuk pengeditan gen pada tumbuhan, terutama padi. CRISPR/Cas9 merupakan teknologi penyuntingan gen yang memungkinkan untuk mengoreksi kesalahan genom, mengaktifkan dan menonaktifkan gen dengan cepat, murah, dan relatif mudah. Teknologi ini melibatkan dua komponen penting yaitu RNA pemandu, untuk mengarahkan ke gen target, dan Cas9, untuk pemutusan untai ganda DNA (Redman *et al.*, 2016).

Vektor rekombinan yang telah berhasil dikonstruksi, kemudian akan diintroduksi ke dalam sel bakteri *E. coli* untuk verifikasi keberhasilan penyisipan sgRNA. Vektor rekombinan yang positif pembawa sgRNA kemudian diintroduksi ke sel bakteri *A. tumefaciens* yang kemudian

diinfeksi ke tanaman agar konstruksi CRISPR/Cas9 dapat terintegrasi ke dalam genom tanaman dan berfungsi dalam pengeditan gen target.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, rumusan masalah penelitian kali ini adalah :

- a. Bagaimana melakukan konstruksi vektor pRGE32 rekombinan dengan sgRNA dari gen *ART1* kemudian diintroduksi ke bakteri *E. coli* strain TOP10 dan *A. tumefaciens*?
- b. Bagaimana ekspresi gen *ART1* pada protoplas yang diintroduksi vektor pRGE32 rekombinan dengan sgRNA dari gen *ART1*?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah yang telah diajukan, tujuan dari penelitian ini adalah :

- a. Mengonstruksi vektor pRGE32 rekombinan dengan sgRNA dari gen *ART1* dan diintroduksi ke bakteri *E. coli* strain TOP10 dan *A. tumefaciens*.
- b. Menganalisis ekspresi gen *ART1* pada protoplas yang diintroduksi vektor pRGE32 rekombinan dengan sgRNA dari gen *ART1*.

## 1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat kepada sejumlah pihak, antara lain :

- a. Menyediakan vektor pRGE32 rekombinan untuk pengeditan gen *ART1* pada padi.
- b. Memberikan informasi tentang teknik membuat vektor rekombinan pRGE32 dengan sgRNA dari gen *ART1*.

- c. Sebagai dasar untuk mengetahui pola ekspresi gen yang dikendalikan *ART1*, sehingga gen-gen tersebut dapat dimanfaatkan untuk mengembangkan galur/varietas padi yang toleran cekaman alumunium

