

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pangan merupakan kebutuhan pokok manusia yang sangat penting dan memiliki peran strategis dalam pembangunan nasional. Ketahanan pangan merupakan isu multidimensi dan sangat kompleks, meliputi aspek sosial, ekonomi, politik, dan lingkungan (Suryana, 2014). Ketahanan pangan merupakan salah satu faktor utama dalam pembangunan suatu bangsa. Menurut Peraturan Badan Pangan Nasional Republik Indonesia, ketahanan pangan didefinisikan sebagai kondisi di mana kebutuhan pangan, baik pada tingkat nasional maupun individu, dapat terpenuhi melalui ketersediaan pangan yang cukup (BPN, 2022). Ketersediaan pangan harus memenuhi tidak hanya dengan jumlah dan kualitas yang memadai, tetapi juga harus bervariasi, bergizi, terdistribusi secara merata, serta dapat diakses oleh seluruh lapisan masyarakat. Ketahanan pangan ditentukan pada tiga aspek utama yang perlu diperhatikan, yaitu ketersediaan pangan, aksesibilitas atau fasilitas yang mendukung, dan pemanfaatan pangan (DKPP, 2015). Pertumbuhan populasi yang pesat, perubahan iklim yang semakin ekstrem, dan penurunan kualitas lahan pertanian juga menjadi tantangan untuk memenuhi kebutuhan pangan yang cukup dan berkualitas. Indonesia termasuk negara dengan jumlah penduduk terbanyak keempat di dunia, yaitu sebesar 270 juta lebih jiwa (BPS, 2022). Sebagian besar penduduk Indonesia mengandalkan sektor pertanian untuk memenuhi kebutuhan sehari-hari, baik dari segi ekonomi maupun nutrisi pangan, sehingga sangat penting untuk meningkatkan ketahanan pangan melalui pembangunan di sektor tersebut, termasuk upaya untuk peningkatan kualitas dan kuantitas produksi pangan yang bergizi.

Indonesia memiliki beberapa komoditas pangan yang dapat dikembangkan menjadi komoditas pangan nasional yang berkualitas, salah

satunya pisang. Pisang (*Musa spp.*) khususnya varietas Cavendish, merupakan salah satu komoditas buah yang sangat penting dalam konteks ketahanan pangan. Lebih dari seribu varietas pisang yang diproduksi di dunia dengan tingkat komersial yang paling tinggi adalah spesies *Musa acuminata*, diantaranya pisang cavendish dan pisang raja (Ginani & Zandonadi, 2019). Pisang cv. Cavendish (*Musa acuminata*) adalah salah satu jenis pisang yang paling banyak dibudidayakan dan dikonsumsi di Indonesia. Menurut Badan Pusat Statistik (BPS) tahun 2023, produksi pisang di Indonesia mencapai 93.352.323 kuintal. Sementara itu, pada tahun 2024 produksi pisang di Indonesia mencapai 92.603.866 kuintal (BPS, 2024). Hampir seluruh wilayah di Indonesia berpotensi sebagai daerah penghasil pisang (Dwivany *et al.*, 2021). Peningkatan produksi ini menunjukkan bahwa komoditas pisang memiliki potensi yang besar dalam mendukung pendapatan nasional khususnya dalam sektor pertanian di Indonesia.

Pisang merupakan buah yang kaya akan nutrisi, sehingga dapat dikonsumsi pada semua kalangan usia. Bagian pisang yang mengandung komposisi nutrisi paling banyak terdapat pada daging buah (Zahra *et al.*, 2021). Buah pisang termasuk buah klimaterik yang ditandai dengan produksi etilen sehingga memicu proses pematangan buah. Buah pisang dapat dikonsumsi dengan berbagai cara, seperti dimakan secara langsung, digoreng, dikukus, atau diolah bersama bahan lain menjadi suatu produk baru yang memiliki nilai jual yang lebih tinggi. Selain rasanya yang manis dan teksturnya yang lembut, pisang juga memiliki kandungan gizi yang bermanfaat bagi kesehatan tubuh. Pisang mengandung berbagai nutrisi penting seperti vitamin C, vitamin B6, vitamin A, kalium, magnesium, dan serat. Pisang yang matang dan memiliki banyak nutrisi pada umumnya berwarna kuning cerah. Pisang juga mengandung antosianin dan polifenol yang bersifat sebagai antioksidan yang dapat mempengaruhi regulasi *satiety hormones* melalui peningkatan produksi bakteri baik dan pembentukan *short chain fatty acid* (SCFA) dalam usus (Lu *et al.*, 2023). Pisang varietas Cavendish per 100 gram memiliki kandungan karbohidrat sebanyak 14,53%,

protein 0,66%, lemak 0,31%, dan serat 1,52% (Handayani *et al.*, 2023). Meskipun memiliki banyak manfaat, nilai gizi pisang ini masih perlu ditingkatkan khususnya vitamin A. Vitamin A menjadi salah satu faktor yang penting untuk menjaga kesehatan mata, memperkuat sistem imun, dan membantu dalam proses pertumbuhan sel. Vitamin A memiliki peran yang penting dalam metabolisme tubuh. Vitamin A, merupakan antioksidan alami yang dapat melindungi tubuh dari stres oksidatif yang mengarah pada penyakit kronis seperti, diabetes dan degenerasi otot terkait usia, anemia, mortalitas, morbiditas, dan penglihatan (Pinazo *et al.*, 2014).

Makanan yang memiliki kandungan vitamin A yang rendah dapat menjadi salah satu penyebab terjadinya kekurangan vitamin A, sehingga dapat menimbulkan suatu penyakit. Oleh karena itu, diperlukan adanya asupan vitamin A yang optimal melalui sayur dan buah, seperti pisang. Fortifikasi makanan dapat dilakukan pada pisang untuk meningkatkan kandungan vitamin A sehingga dapat meningkatkan konsumsi vitamin A khususnya pada populasi yang rentan mengalami kekurangan vitamin A. Kekurangan vitamin A adalah masalah kesehatan masyarakat pada anak-anak, wanita hamil dan menyusui khususnya di negara-negara berkembang dan paling banyak terjadi di beberapa bagian Afrika dan Asia Selatan serta Asia Tenggara (WHO, 2009). Kekurangan vitamin A dapat menyebabkan masalah kesehatan yang serius dan dapat dialami oleh seluruh golongan usia mulai dari balita, anak-anak, sampai orang dewasa bahkan ibu hamil. Menurut *World Health Organization* (WHO), 45 negara memiliki masalah kesehatan masyarakat pada tingkat klinis, yang mencakup tanda-tanda kekurangan vitamin A yang terlihat jelas, dan 122 negara memiliki tingkat kekurangan vitamin A di bawah tingkat klinis yang ditandai dengan kerusakan hati (WHO, 2009). Kekurangan vitamin A masih menjadi penyebab utama kebutaan pada anak yang dikaitkan dengan penurunan fungsi kekebalan tubuh serta peningkatan risiko kematian akibat penyakit pencernaan dan campak (Maida *et al.*, 2008). Kekurangan vitamin A juga menjadi penyebab terjadinya stunting pada anak-anak dalam masa pertumbuhannya.

Sementara itu, tubuh manusia tidak dapat mensintesis vitamin A, sehingga vitamin A hanya didapatkan dari konsumsi buah dan sayuran yang kaya karotenoid (lutein, zeaxanthin, likopen, dan β -karoten) untuk mencegah penyakit kronis (Boeing *et al.*, 2012). Sekitar 50 karotenoid memiliki aktivitas provitamin A, namun β -karoten merupakan prekursor vitamin A yang paling penting. β -karoten umumnya terdapat pada buah-buahan dan sayuran berwarna kuning seperti mangga, pisang, pepaya, wortel, dan bit (Singh *et al.*, 2017). β -karoten adalah sumber vitamin A yang baik karena konversi β -karoten menjadi vitamin A di dalam usus menurun seiring dengan meningkatnya dosis β -karoten per oral (Novonty *et al.*, 2010). β -karoten merupakan salah satu senyawa karotenoid, yaitu pigmen yang disintesis pada tumbuhan dan organisme lainnya yang memiliki peran yang sangat penting pada manusia terutama dalam pembentukan vitamin A. Penelitian ini berfokus pada peningkatan nilai gizi khususnya kadar vitamin A pada pisang yang menjadi sumber ketahanan pangan nasional.

Peningkatan kandungan vitamin A dapat dilakukan melalui analisis ekspresi gen *lycopene beta-cyclase* (LCYB). Gen LCYB memiliki peran dalam proses pembentukan karotenoid. Gen LCYB mengkodekan enzim likopen beta siklase, yang mengontrol jalur pembentukan beta-karoten pada tanaman pisang. Ekspresi gen LCYB khususnya pada pisang dapat mempengaruhi besarnya kandungan likopen dan karotenoid lainnya yang terdapat pada buah. Analisis ekspresi gen LCYB dilakukan untuk dapat memahami cara meningkatkan kandungan karotenoid dalam buah, sehingga memberikan nilai gizi yang lebih baik bagi masyarakat. Peningkatan kandungan karotenoid, termasuk likopen, dapat memberikan manfaat kesehatan, seperti sifat antioksidan dan potensi dalam pencegahan penyakit (Bai *et al.*, 2020). Penelitian yang dilakukan oleh Zhang *et al.* (2021), menunjukkan bahwa modifikasi genetik pada jalur biosintesis karotenoid dapat meningkatkan kandungan likopen pada tomat, yang berpengaruh pada peningkatan nilai gizi. Hal ini menunjukkan potensi yang sama untuk diterapkan pada pisang cv. Cavendish, dimana peningkatan ekspresi gen

LCYB dapat meningkatkan kualitas buah dan nilai gizi. Penelitian mengenai ekspresi gen *LCYB* pada pisang masih terbatas. Oleh karena itu, diperlukan analisis lanjutan mengenai ekspresi gen *LCYB* pada pisang cv. Cavendish yang telah ditransformasi menggunakan vektor pRGE32-*sgLCYB*. Karakteristik morfologi, fisiologis tanaman, dan kandungan karotenoid dapat dipengaruhi oleh ekspresi gen *LCYB*. Teknik pemuliaan genetik dan pengeditan gen, dapat membantu dalam melakukan analisis ekspresi gen *LCYB*. Penelitian ini akan menggunakan metode analisis ekspresi gen, seperti qRT-PCR, untuk mengevaluasi tingkat ekspresi gen *LCYB* pada tanaman yang telah ditransformasi. Pengeditan gen yang dilakukan pada penelitian ini diharapkan dapat meningkatkan kandungan karotenoid dalam pisang, sekaligus mempertahankan ciri khas dan sifat asli dari varietas tersebut. Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan kontribusi signifikan bagi pengembangan varietas pisang yang lebih bergizi dan berkualitas sehingga dapat memberikan manfaat bagi kesehatan masyarakat dan mendukung ketahanan pangan nasional.

Metode yang digunakan dalam memodifikasi gen *LCYB*, dapat dilakukan dengan dua metode, yaitu dengan menggunakan *Agrobacterium tumefaciens* dan menggunakan ribonukleoprotein (RNP). RNP dapat dikirim langsung ke sel tanaman tanpa memiliki dinding sel, seperti protoplas. Dinding sel harus dihilangkan terlebih dahulu melalui reaksi enzimatis sebelum dilakukan transfeksi. RNP dikirim ke protoplas melalui transfeksi yang dimediasi polietilen glikol (PEG) 4000 (Woo *et al.*, 2015). Sel protoplas merupakan bahan biologis *in vivo* yang sesuai untuk pengiriman CRISPR tanpa DNA pada tanaman (Sant'Ana *et al.*, 2020). Protoplas juga dapat bertahan setelah dilakukannya transfeksi, sehingga memungkinkan kultivasi dan perbanyakan jaringan lebih lanjut. Penggunaan protoplas juga memiliki kelemahan, seperti jumlah DNA yang kecil dalam satu protoplas, sehingga gen yang ditargetkan tidak dapat diamplifikasi dengan PCR satu langkah (Lin *et al.*, 2018). Urutan gen target dapat dilihat dengan melakukan PCR dalam putaran kedua. Sementara itu, metode dengan menggunakan *Agrobacterium*

tumefaciens merupakan metode yang paling sering digunakan untuk mentransformasi tanaman. Proses transformasi genetik tanaman yang dimediasi *Agrobacterium tumefaciens* memerlukan dua komponen genetik yang terletak pada plasmid Ti bakteri, yakni T-DNA dan daerah virulensi (*vir*). T-DNA didefinisikan oleh pengulangan 25 pasang basa yang terkonversi di ujung-ujung daerah T. Daerah virulensi (*vir*) terdiri dari tujuh lokus utama, yakni *virA*, *virB*, *virD*, *virE*, *virF*, dan *virG* (Hwang *et al.*, 2017). Metode transformasi ini memiliki tingkat keberhasilan yang dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya galur bakteri, plasmid, media kultur, lamanya waktu ko-kultivasi, *acetosyringone*, pelukaan, dan kompetensi sel inang untuk terinfeksi (Salas *et al.*, 2001). Kemampuan *Agrobacterium tumefaciens* dalam mentransfer T-DNA ke tanaman telah banyak dilakukan untuk menghasilkan tanaman transgenik untuk mengekspresikan gen yang diinginkan untuk tujuan penelitian atau untuk aplikasi komersial (Guo *et al.*, 2019). Metode transformasi tanaman yang dimediasi oleh *Agrobacterium tumefaciens* memiliki beberapa kelemahan, seperti mengakibatkan nekrosis jaringan tanaman dan mengakibatkan masalah kesehatan karena penggunaan antibiotik yang berlebihan sebagai penanda seleksi.

Melalui pendekatan ini, diharapkan dapat diperoleh data yang akurat dan relevan mengenai pengaruh transformasi terhadap ekspresi gen dan karakteristik tanaman. Oleh karena itu, kualitas dan kuantitas hasil pertanian dapat ditingkatkan, sehingga dapat mendukung upaya pemerintah dalam mencapai ketahanan pangan yang berkelanjutan. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi signifikan dalam pengembangan teknologi pertanian yang inovatif dan berkelanjutan.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka masalah yang dapat dirumuskan sebagai berikut :

1. Bagaimana metode paling efektif untuk transformasi protoplas tanaman pisang cv. Cavendish untuk studi plasmid *LCYB*?

2. Bagaimana tingkat ekspresi gen *LCYB* pada pisang cv. Cavendish yang telah dimodifikasi dibandingkan dengan pisang yang tidak dimodifikasi?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah maka tujuan dari penelitian yaitu :

1. Menguji keberhasilan transformasi gen *LCYB* pada protoplas menggunakan vektor pRGEB32-*sgLCYB*
2. Menganalisis ekspresi gen *LCYB* pada protoplas rekombinan pRGEB32-*sgLCYB*

1.4 Manfaat Penelitian

Berdasarkan tujuan penelitian yang hendak dicapai, penelitian ini diharapkan memiliki manfaat baik secara teoritis maupun praktis. Adapun manfaat penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Manfaat teoritis
 - a. Memberikan informasi yang lebih jelas tentang peningkatan nilai gizi pisang cv. Cavendish melalui regulasi gen *LCYB*.
 - b. Memberikan sumber referensi dan menjadi bahan kajian lebih lanjut pada penelitian selanjutnya yang berhubungan dengan analisis ekspresi gen *LCYB* pada protoplas transforman pRGEB32-*sgLCYB*.

2. Manfaat praktis

Mendukung upaya ketahanan pangan nasional dengan menghasilkan varietas pisang dari sel yang dimodifikasi, sehingga lebih berkualitas, bernutrisi, dan bermanfaat bagi kesehatan.