

# BAB I. PENDAHULUAN

## 1.1 Latar Belakang

Pisang merupakan tanaman hortikultura penting dalam perdagangan dunia, karena kontribusinya yang nyata terhadap kebutuhan gizi dan kesehatan masyarakat. Pisang sebagai salah satu komoditas buah unggulan di Indonesia produksinya selalu meningkat, berdasarkan data BPS pada tahun 2020 produksi pisang di Indonesia sebesar 8.182.756 ton meningkat sebesar 12,4% dari tahun sebelumnya. Propinsi Sumatera Barat termasuk salah satu sentra pisang di Indonesia. Produktivitas pisang di Sumatera Barat terus meningkat, berdasarkan data BPS pada tahun 2019 jumlah produksi pisang sebesar 116.379 ton, meningkat menjadi 142.034 ton pada tahun 2020.

Kabupaten Agam merupakan salah satu sentra produksi pisang di Sumatera Barat, jenis pisang yang dibudidayakan oleh masyarakatnya beragam dari 15 sampai 20 jenis pisang (Kusumawati dan Syukriani, 2010; Syukriani *et al.*, 2018), salah satunya adalah pisang raja. Pisang raja termasuk jenis pisang yang dapat dikonsumsi dalam keadaan segar maupun diolah terlebih dahulu. Pisang raja memiliki keunggulan dari segi rasa (lebih manis dan lebih legit), serta penampilan buah menarik (warna kulit kuning cerah dengan warna daging buah kuning kemerahan). Kandungan vitamin A dalam 100 g buah pada pisang raja lebih tinggi sebesar 950 SI dibandingkan pisang ambon 146 SI dan pisang raja sereh 112 SI (Astawan, 2008).

Pisang raja memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai pangan fungsional yaitu pangan alami atau pangan olahan yang mengandung komponen bioaktif sehingga dapat memberikan dampak positif pada fungsi metabolisme manusia, salah satu komponen pangan fungsional itu adalah pati resisten. Pisang mentah (unripe) yang berwarna hijau memiliki kandungan pati resisten (Hoffmann Sardá *et al.*, 2016; (Chávez-Salazar *et al.*, 2017). Pati resisten merupakan bagian pati dan produk pati yang tahan terhadap enzim pencernaan, berarti tidak dihidrolisis di usus halus, namun akan masuk ke usus besar untuk difermentasi oleh mikroflora kolon (Sajilata *et al.*, 2006; Dupuis *et al.*, 2014). Pati resisten

memiliki nilai fungsional untuk fortifikasi serat, mereduksi kalori, dan mengoksidasi lemak (Herawati, 2011). Beberapa sifat fungsional menguntungkan pati resisten antara lain sebagai komponen serat makanan, mencegah kanker kolon, bersifat hipoglikemik, hipokholesterolemik, sebagai prebiotik, mengurangi pembentukan batu empedu, menghambat penumpukan lemak, dan meningkatkan absorpsi mikronutrien seperti zat besi dan kalsium (Sajilata *et al.*, 2006). Pati resisten juga memiliki kemampuan untuk mengurangi respon glikemik dan respon insulin sehingga bisa memberi proteksi terhadap diabetes (Zhang *et al.*, 2007).

Kadar pati resisten pada bahan alami seperti pisang raja umumnya masih rendah sehingga belum dapat dijadikan sebagai bahan pangan fungsional. Kandungan pati resisten pada pisang raja akan menurun seiring dengan pematangan buah dan proses pengolahannya. Tingkat resistensi pati dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti struktur fisik, derajat gelatinisasi, serta kandungan amilosa dan amilopektin (Suloi, 2019). Sejauh ini informasi mengenai karakterisasi fisikokimia pati pisang raja di Sumatera Barat belum pernah dilakukan. Oleh karena itu penting dilakukan karakterisasi fisikokimia pati dan tepung pisang raja sebagai informasi awal untuk pengembangan olahan pangan fungsional berbasis pati dan tepung serta upaya untuk peningkatan kandungan pati resisten pisang raja di masa yang akan datang.

Peningkatan kandungan pati resisten pada bahan alami dapat dilakukan melalui modifikasi jalur biosintesis pati. Pati tersusun dari dua tipe polimer glukosa yaitu amilosa dan amilopektin. Pada amilosa ikatan glikosidik yang terbentuk berupa ikatan  $\alpha$ -1,4 glikosidik, sedangkan pada amilopektin terdapat dua ikatan glikosidik yaitu  $\alpha$ -1,4 glikosidik dan  $\alpha$ -1,6 glikosidik. Perbedaan antara amilosa dan amilopektin terletak pada pembentukan percabangan pada struktur liniernya, ukuran derajat polimerisasi, ukuran molekul dan pengaturan posisi pada granula pati (Regina *et al.*, 2006).

Enzim utama yang terlibat dalam sintesis amilosa adalah *granule bound starch synthase* (GBSS), sedangkan enzim yang terlibat dalam sintesis amilopektin adalah *starch synthase* (SS), *starch branching enzymes* (SBE) dan *starch debranching enzyme* (SDBE) (Sestili *et al.*, 2010); (Jeon *et al.*, 2010). Kandungan amilosa dalam pati memiliki hubungan positif secara langsung dengan

kandungan pati resisten (Regina *et al.*, 2006; Sang *et al.*, 2008; Zhou *et al.*, 2016). Peningkatan pati resisten dapat dilakukan dengan meningkatkan kadar amilosa (Asp and Björck, 1992).

Kandungan amilosa dalam pati dapat ditingkatkan dengan menggunakan dua metode yaitu meningkatkan ekspresi (*overexpression*) gen *GBSS* dan menghilangkan atau menekan aktifitas gen yang terkait dengan sintesis amilopektin seperti *SBE* dan *SS* (Itoh *et al.*, 2003); (Zhou *et al.*, 2016). Kelemahan dari peningkatan kadar amilosa melalui *overexpression* gen *GBSS* adalah terbatasnya ujung non pereduksi dalam amilosa dan persaingan substrat antara amilosa dan amilopektin sehingga tidak dapat meningkatkan kandungan amilosa lebih tinggi (Sestili *et al.*, 2012). Cara lain yang lebih efektif untuk meningkatkan kadar amilosa yaitu melalui penekanan ekspresi gen *SBE* yang dapat menghambat pembentukan titik percabangan pada rantai amilopektin sehingga percabangan tidak terbentuk dan diperoleh rantai lurus, sehingga dapat meningkatkan kandungan amilosa dalam tanaman (Wang *et al.*, 2017). Hal ini dapat dilakukan dengan 2 cara yaitu interferensi RNA (RNAi) dan penghambatan RNA antisense (asRNA) (Dupuis *et al.*, 2014).

Interferensi RNA adalah suatu mekanisme pemblokiran ekspresi gen (*gene silencing*) pada fase *post*-transkripsi dengan cara menginduksi *double stranded* RNA (dsRNA) ke dalam sel target sehingga menempel pada sekuen mRNA dan memicu degradasinya (Estrada *et al.*, 2007). Beberapa penelitian mengenai peningkatan kadar amilosa pada beberapa tanaman telah banyak yang berhasil menggunakan teknologi RNAi dengan menghambat ekspresi gen-gen yang menyandi pembentukan sintesis amilopektin. Shimada *et al.*, (2006) telah berhasil meningkatkan kandungan amilosa pada ubi jalar (*sweet potato*) sebesar 25% menggunakan RNAi dengan menghambat ekspresi gen *SBEII*. Pada tanaman gandum, Regina *et al.* (2006) berhasil meningkatkan kandungan amilosa sebesar 70% menggunakan RNAi untuk menghambat ekspresi gen *SBEIIa* dan *SBEIIb*. Pada *Durum Wheat* (Sestili *et al.*, 2010) dan jagung (Guan *et al.*, 2011) juga telah berhasil meningkatkan kandungan amilosa dengan menghambat ekspresi gen *SBEIIa* melalui RNAi. Sedangkan peningkatan kandungan amilosa pada buah

pisang dengan menghambat aktifitas gen *SBE* melalui teknologi RNAi belum ada dilakukan.

*SBE* merupakan salah satu enzim yang berperan dalam sintesis amilopektin yang menentukan permulaan titik percabangan pada rantai amilopektin (Li dan Gilbert, 2016; Pan *et al.*, 2018). Penelitian Miao *et al.* (2018) pada pisang BaXi Jiao (*M. acuminata* AAA group cv. Cavendish, BX) dan Fen Jiao (*M. acuminata* AAB group cv. Fenjiao, FJ) menunjukkan bahwa ekspresi gen *MaSBE* berperan penting dalam perkembangan dan pematangan buah yang akan berpengaruh pada kualitas dan hasil buah pisang.

Langkah awal sebelum dilakukan konstruksi vektor RNAi perlu diketahui sekuen gen target yaitu sekuen gen *SBE* Pisang Raja. Tahapan ini dapat dilakukan dengan cara isolasi gen melalui disain primer spesifik berdasarkan data sekuen referensinya, selanjutnya diamplifikasi dan disekuensing. Data sekuen gen yang telah diperoleh menjadi patokan untuk disain primer selanjutnya sampai diperoleh susunan gen yang utuh yang dikenal dengan istilah *primer walking*. Berdasarkan latar belakang tersebut, maka telah dilakukan penelitian mengenai ‘Karakterisasi Fisikokimia Pati dan Tepung serta Isolasi Gen *SBE* (*Starch Branching Enzymes*) pada Pisang Raja (*Musa paradisiaca*)’.

## 1.2 Rumusan Masalah

Perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi telah mengubah gaya hidup dan pola konsumsi masyarakat. Saat ini konsumsi pangan tidak hanya sebagai pemenuhan kebutuhan dasar dan rasa kenyang tapi pangan diharapkan dapat memberikan manfaat kesehatan bagi tubuh seperti mencegah munculnya penyakit degeneratif, meningkatkan daya tahan tubuh dan memperlambat penuaan. Pangan yang demikian dikenal dengan istilah pangan fungsional.

Pati resisten merupakan salah satu bentuk pangan fungsional. Pati resisten digolongkan sebagai sumber serat (Nugent, 2005) dan diketahui mampu menurunkan kolesterol dan indeks glikemik (Lehmann *et al.*, 2002), mencegah kanker kolon karena mikroflora mampu mengubah pati resisten menjadi senyawa asam lemak berantai pendek (asam butirat) (Sajilata *et al.*, 2006); (Fuentes-

Zaragoza *et al.*, 2010); (Birt *et al.*, 2013), mereduksi pembentukan batu empedu dan membantu penyerapan mineral dalam tubuh (Sajilata *et al.*, 2006).

Pisang raja memiliki potensi yang besar untuk dikembangkan sebagai pangan fungsional oleh sebab itu karakterisasi fisikokimia pati dan tepung pisang raja perlu diketahui untuk pengembangan pati dan tepung sebagai pangan fungsional. Kandungan pati resisten pada buah pisang ini akan berkurang disebabkan oleh pematangan buah pisang dan proses pengolahan makanan menggunakan suhu tinggi. Kandungan pati resisten berkorelasi positif dengan kandungan amilosa. Rekayasa genetika melalui modifikasi jalur biosintesis pati dapat meningkatkan kandungan amilosa pada pati pisang, salah satunya adalah dengan menghambat pembentukan percabangan pada rantai amilopektin melalui penekanan terhadap ekspresi gen *SBE* (*Starch Branching Enzymes*) menggunakan teknik RNA interferensi. Tahapan awal untuk melakukan kontruksi vektor RNAi perlu diketahui sekuen gen target yaitu sekuen gen *SBE* pisang raja.

Berdasarkan latar belakang yang telah dijabarkan di atas, maka rumusan masalah yang telah diteliti dalam penelitian ini dapat dirangkumkan sebagai berikut:

1. Bagaimana karakteristik pati pisang raja secara morfologi dan fisikokimia
2. Bagaimana karakteristik gen *SBE* yang terlibat dalam biosintesis pati pisang raja

### 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan pada penelitian ini adalah:

1. Mengetahui karakteristik fisikokimia pati dan tepung pada pisang raja.
2. Mengetahui data sekuen dan karakteristik gen *SBE* pada pisang raja.

### 1.4 Manfaat Penelitian

Dari segi sosial ekonomi, luaran dari studi ini diharapkan dapat meningkatkan minat dan kebiasaan masyarakat mengkonsumsi makanan kaya serat dengan berbagai bentuk olahan dari buah atau tepung pisang yang kaya akan kandungan pati resisten dengan rasa yang enak dan harga yang terjangkau.

Dari segi akademisi, data sekuen gen *SBE* yang diperoleh merupakan informasi penting untuk melakukan rekayasa genetika selanjutnya terhadap kandungan amilosa pisang raja

### 1.5 Keterbaruan Penelitian

1. Karakteristik morfologi pisang raja menggunakan analisis SEM menunjukkan granula pati dan tepung pisang berbentuk oval tidak beraturan dengan ukuran 20-30 $\mu$ m
2. Analisis kristalinitas menggunakan XRD menunjukkan pati dan tepung pisang raja memiliki kristalinitas tipe B
3. Analisis menggunakan XRF menunjukkan kandungan mineral makro dan mikro yang terdapat pada pati dan tepung pisang raja.
4. Gen *SBE* pisang raja sepanjang 3.004 bp berhasil diketahui urutannya.
5. Sekuen gen *SBE* pisang raja memiliki variasi sebanyak 45 nukleotida yaitu 21 basa substitusi, 2 basa insersi, 6 basa delesi, dan 16 nukleotida heterozigot.
6. Sekuen asam amino dari protein SBE pisang raja memiliki 7 variasi asam amino dibanding protein referensi XP\_009403733.1.

