

**POLA EKSPRESI GEN PENYANDI ENZIM BIOSINTESIS  
PATI PADA UMBI UBI KAYU (*Manihot esculenta* Crantz)**

**SKRIPSI**

*Diajukan sebagai salah satu persyaratan memperoleh gelar  
Sarjana Sains*



Oleh:  
**DHEA FERDA PRATIWI**  
**16032064/2016**

**JURUSAN BIOLOGI**  
**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM**  
**UNIVERSITAS NEGERI PADANG**  
**2020**

## **PERSETUJUAN SKRIPSI**

### **POLA EKSPRESI GEN PENYANDI ENZIM BIOSINTESIS PATI PADA UMBI UBI KAYU (*Manihot esculenta* Crantz)**

Nama : Dhea Ferda Pratiwi  
NIM : 16032064  
Program Studi : Biologi  
Jurusan : Biologi  
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Padang, Februari 2020

Disetujui oleh:

Pembimbing 1

Dr. Dwi Hilda Putri, S.Si., M.Biomed  
NIP. 197508152006042001

Pembimbing 2

Dr. Wahyuni, S.Si., M.Biomed  
NIP. 1978062320055022002

Mengetahui:  
Ketua Jurusan Biologi

Dr. Dwi Hilda Putri, S.Si., M.Biomed  
NIP. 197508152006042001

## PENGESAHAN LULUS UJIAN SKRIPSI

Nama : Dhea Ferda Pratiwi  
NIM : 16032064  
Program Studi : Biologi  
Jurusan : Biologi  
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

### **POLA EKSPRESI GEN PENYANDI ENZIM BIOSINTESIS PATI PADA UMBI UBI KAYU (*Manihot esculenta* Crantz)**

Dinyatakan lulus setelah dipertahankan di depan Tim Penguji Skripsi  
Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Negeri Padang

Padang, Februari 2020

#### Tim Penguji

	Nama
Ketua	: Dr. Dwi Hilda Putri, S.Si., M. Biomed
Sekretaris	: Dr. Wahyuni, S.Si., M.Biomed
Anggota	: Siska Alicia Farma, S.Pd., M. Biomed
Anggota	: Dezi Handayani, M. Si

#### Tanda Tangan

## SURAT PERNYATAAN TIDAK PLAGIAT

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Dhea Ferda Pratiwi  
NIM/ TM : 16032064/ 2016  
Program Studi : Biologi  
Jurusan : Biologi  
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Dengan ini menyatakan bahwa, skripsi saya dengan judul "**Pola Ekspresi Gen Penyandi Enzim Biosintesis Pati pada Umbi Ubi Kayu (*Manihot esculenta Crantz*)**" adalah benar hasil karya sendiri dan bukan plagiat dari karya orang lain. Sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya dan pendapat yang ditulis atau diterbitkan orang lain kecuali sebagai acuan atau kutipan dengan mengikuti tata penulisan karya ilmiah yang lazim.

Demikianlah pernyataan ini saya buat dengan penuh kesadaran dan rasa tanggung jawab sebagai anggota masyarakat ilmiah.

Padang, Februari 2020

Diketahui oleh,  
Ketua Jurusan:

Dr. Dwi Hilda Putri, S.Si., M.Biomed  
NIP. 197508152006042001

Saya yang menyatakan,



Dhea Ferda Pratiwi  
NIM. 16032064

**Pola Ekspresi Gen Penyandi Enzim Biosintesis Pati pada Umbi Ubi Kayu  
(*Manihot esculenta* Crantz)**

**Dhea Ferda Pratiwi**

**ABSTRAK**

Ubi kayu merupakan tanaman dengan kandungan pati tinggi yang banyak dimanfaatkan dalam bidang industri. Fluktuasi kadar amilosa atau amilopektin dan kualitas pati ubi kayu yang tidak spesifik menyebabkan perlunya upaya perbaikan kandungan dan komposisi pati ubi kayu. Perbaikan kandungan dan komposisi ubi kayu dapat dilakukan melalui pemuliaan tanaman terarah dengan bantuan informasi genetik terkait biosintesis pati. Salah satu cara untuk memahami jalur biosintesis pati dilakukan dengan mengungkap pola ekspresi gen-gen yang mengkode enzim biosintesis pati. Tujuan penelitian ini adalah untuk merancang primer, mengetahui pola ekspresi dan mengidentifikasi kandidat gen yang berperan dalam biosintesis pati ubi kayu.

Jenis penelitian ini adalah penelitian deskriptif yang dilaksanakan pada bulan Juli-Desember 2019 di Laboratorium Genetika Molekular dan Modifikasi Jalur Biosintesis Tanaman (GMMJBT), Puslit Bioteknologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Cibinong, Bogor. Gen yang dianalisis yaitu *GBSS1*, *GBSS2*, *SS/SaSy*, *SBE2-1*, *SBE2-2*, *SBE3*, *DBE*, *GWD* dan *SuSy*. Sampel ubi kayu yang diuji yaitu varietas dengan kandungan pati tinggi (Adira 4, Menti, Kristal merah, Revita 1) dan varietas dengan kandungan pati rendah yaitu Tali. Primer dirancang dengan bantuan *software* Primer3 Versi 4.0. RNA dianalisis secara *quantitative Real-Time PCR*. Ekspresi gen dianalisis dengan metode *comparative* ( $\Delta Ct$ ).

Penelitian ini berhasil merancang 10 primer terpilih untuk mengamplifikasi gen-gen target. Pola ekspresi gen yang tinggi ditunjukkan pada gen *GBSS1*, *SBE2-2*, *SBE2-1*, dan *SBE3* untuk varietas dengan kandungan pati tinggi (Adira 4, Menti, Kristal merah, Revita 1), dan *GWD* pada Tali. Sedangkan *GBSS2*, *SS*, dan *DBE* tidak terekspresi pada kelima varietas uji. Kandidat gen yang berperan dalam biosintesis pati pada kelima varietas uji adalah *GBSS1*, *SBE2-1*, *SBE2-2*, *SBE3*, dan *GWD*.

Kata Kunci: Biosintesis Pati, Ekspresi Gen, qRT-PCR, Ubi Kayu

**Patterns of Starch Biosynthetic Enzyme Encoding Genes in Cassava Root  
(*Manihot esculenta* Crantz)**

**Dhea Ferda Pratiwi**

**ABSTRACT**

Cassava is a plant with high starch content which is widely used in the industry. Fluctuations in amylose or amylopectin levels and non-specific quality of cassava starch cause the need to improve the content and composition of cassava starch. Improvement of the content and composition of cassava can be done through plant breeding directed with the help of genetic information related to the biosynthesis of starch. One way to understand the starch biosynthesis pathway is to reveal the expression patterns of genes that encode starch biosynthetic enzymes. The purpose of this study was to design primers, find expression patterns and identify candidate genes that play a role in the biosynthesis of cassava starch.

This type of research is descriptive research conducted in July-December 2019 at the Molecular Genetic Laboratory and Modification of Plant Biosynthesis Pathways (GMMJBT), Research Center for Biotechnology, Indonesian Institute of Sciences (LIPI), Cibinong, Bogor. The genes analyzed were *GBSS1*, *GBSS2*, *SS*/*SaSy*, *SBE2-1*, *SBE2-2*, *SBE3*, *DBE*, *GWD*, and *SuSy*. The cassava samples tested were varieties with high starch content (Adira 4, Menti, Kristal merah, Revita 1) and varieties with low starch content, Tali. Primer was designed with the help of Primer3 Version 4.0 software. RNA was analyzed quantitatively in Real-Time PCR. Gene expression was analyzed by the comparative method ( $\Delta Ct$ ).

This research successfully designed 10 selected primers to amplify the target genes. High gene expression patterns were shown in the *GBSS1*, *SBE2-2*, *SBE2-1*, and *SBE3* genes for varieties with high starch content (Adira 4, Menti, Kristal merah, Revita 1), and *GWD* on the Tali. Whereas *GBSS2*, *SS*, and *DBE* were not expressed in the five test varieties. Gene candidates that play a role in starch biosynthesis in the five test varieties are *GBSS1*, *SBE2-1*, *SBE2-2*, *SBE3*, and *GWD*.

Keywords: Starch Biosynthesis, Gene Expression, qRT-PCR, Cassava

## KATA PENGANTAR



Puji dan syukur kepada Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikan skripsi ini yang berjudul "**Pola Ekspresi Gen Penyandi Enzim Biosintesis Pati pada Umbi Ubi Kayu (*Manihot esculenta Crantz*)**". Shalawat beriring salam untuk Nabi Muhammad SAW sebagai junjungan umat seluruh alam.

Penulisan skripsi ini bertujuan untuk memenuhi salah satu persyaratan memperoleh gelar Sarjana Sains Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Padang.

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada :

1. Ibu Dr. Dwi Hilda Putri, S. Si., M. Biomed sebagai pembimbing I, yang telah memberikan waktu, fikiran dan tenaga untuk membimbing dan mengarahkan penulis dalam menyelesaikan skripsi.
2. Ibu Dr. Wahyuni, S.Si., M.Biomed sebagai pembimbing II, yang telah memberikan waktu, fikiran dan tenaga untuk membimbing dan mengarahkan penulis dalam menyelesaikan skripsi.
3. Ibu Dr. Yuni Ahda, M.Si sebagai pembimbing akademik yang selalu memberikan nasehat dan saran selama di jurusan Biologi.
4. Ibu Dezi Handayani, M. Si. dan Ibu Sisca Alicia Farma, S.Pd., M.Biomed sebagai tim dosen penguji yang telah memberikan kritikan dan saran dalam penulisan skripsi ini.
5. Bapak/Ibu dosen staf jurusan Biologi yang telah membantu untuk kelancaran penulisan skripsi ini.

6. Kepada kedua orang tua tercinta, Ibunda Syaridah dan Ayahanda Syafri (Alm) untuk do'a dan dukungan yang selalu mengiringi setiap langkah penulis dalam proses perkuliahan, penelitian hingga penulisan skripsi.
7. Keluarga besar penulis yang senantiasa memberikan do'a serta dukungan.
8. Ibu Dina Andryani, Ibu Nia Anggraeni, dan Ibu Lina Marlina sebagai teknisi laboratorium GMMJBT Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian.
9. Fori Fortuna, Halimah Tusa'diah, Husnul Khotimah, Intan Permata Aqilla, Sausan Hanifa, Rahmat Wahyudi Putra, Wibi M. Sofyan, dan Fajar Prima Leonan yang senantiasa memberikan dukungan serta bantuan. Penulis bersyukur dapat berproses bersama dalam perkuliahan dan memberikan semangat dalam penelitian dan penulisan skripsi.
10. Rekan-rekan kelompok bimbingan Ibu Dr. Dwi Hilda Putri, S.Si., M.Biomed yang telah memberikan bantuan dalam proses penulisan skripsi.
11. Keluarga besar Biologi Sains 2016 yang selalu memberikan dukungan serta do'a.

Semoga bantuan yang Bapak/Ibu serta rekan-rekan berikan bernilai ibadah dan mendapatkan pahala dari Allah SWT. Penulis berharap skripsi ini bisa memberikan manfaat bagi semua orang yang membacanya.

Padang, Februari 2020

Penulis

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
<b>HALAMAN PERSETUJUAN</b>	
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b>	
<b>SURAT PERNYATAAN</b>	
<b>ABSTRAK .....</b>	<b>i</b>
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>iii</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>v</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>vii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>viii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>ix</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
A. Latar Belakang .....	1
B. Rumusan Masalah .....	4
C. Tujuan Penelitian.....	5
D. Manfaat Penelitian.....	5
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>6</b>
A. Tanaman Ubi Kayu .....	6
B. Pati.....	8
C. Ekspresi Gen .....	11
D. <i>quantitative Real-Time PCR</i> .....	13
<b>BAB III METODE PENELITIAN .....</b>	<b>16</b>
A. Jenis Penelitian .....	16
B. Waktu dan Tempat .....	16
C. Alat dan Bahan .....	16
D. Prosedur Penelitian.....	18
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>25</b>
A. Hasil .....	25
1. Pemilihan Kandidat Primer untuk Analisis Ekspresi Gen Penyandi Biosintesis Pati Ubi Kayu .....	25
2. Kualifikasi dan Kuantifikasi RNA Total .....	28
3. Uji Optimasi dan Spesifitas Primer dengan PCR .....	31
4. Analisis Reaksi <i>quantitative Real-Time PCR</i> (qRT-PCR).....	33
5. Analisis Kandidat <i>Housekeeping gene</i> .....	34
6. Analisis Ekspresi Gen Penyandi Enzim Biosintesis Pati .....	37
B. Pembahasan .....	40
1. Spesifitas Kandidat Primer untuk Analisis Ekspresi Gen Penyandi Biosintesis Pati Ubi Kayu .....	40
2. Hasil Isolasi RNA Total.....	42
3. Sintesis cDNA, Optimasi Primer, dan Uji Spesifitas Primer dengan	

Reaksi PCR .....	44
4. Analisis Reaksi <i>quantitative Real-Time</i> (qRT-PCR).....	46
5. Analisis Kandidat <i>Housekeeping Gene</i> .....	48
6. Analisis Ekspresi Gen Penyandi Enzim Biosintesis Pati.....	48
<b>BAB V PENUTUP.....</b>	<b>54</b>
A. Kesimpulan.....	54
B. Saran .....	54
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>55</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>63</b>

## **DAFTAR TABEL**

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
1. Jenis Varietas Ubi Kayu yang digunakan pada Pengujian Ekspresi Gen .....	18
2. Kandidat Gen Penyandi Enzim Biosintesis Pati yang digunakan pada Pengujian Ekspresi Gen.....	19
3. Primer yang digunakan untuk <i>quantitative Real-Time PCR</i> .....	26
4. Hasil Identifikasi Sekuens Primer dengan menggunakan Program BLAST <i>Manihot esculenta</i> Database Phytozome12 .....	27
5. Data Kuantifikasi RNA Total Ubi Kayu .....	30

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar</b>	<b>Halaman</b>
1. Morfologi Varietas Umbi Ubi Kayu .....	7
2. Variasi Warna Kulit dan Daging Umbi Ubi Kayu .....	9
3. Struktur Molekul Amilosa dan Amilopektin.....	9
4. Jalur Biosintesis Pati pada Ubi Kayu .....	10
5. Hasil Kualifikasi RNA Total Ubi Kayu dengan <i>Gel Agarose 1%</i> .....	29
6. Visualisasi Produk PCR Hasil Optimasi Primer .....	32
7. <i>Melt Peak</i> dan <i>Amplification Curve</i> Gen <i>SBE2-1</i> .....	34
8. (A) Grafik <i>Box Plots</i> Nilai Ct <i>Housekeeping Gene</i> terhadap Semua Sampel Uji; (B) Grafik <i>Dot Plots</i> Nilai Ct Gen Target terhadap Semua Sampel Uji. ..	36
9. Nilai Ekspresi Relatif Gen <i>GBSS1</i> , <i>GBSS2</i> , <i>DBE</i> , <i>SBE2-1</i> , <i>SBE2-2</i> , <i>SBE3</i> , SS, dan <i>GWD</i> pada Kelima Varietas Ubi Kayu .....	39

## DAFTAR LAMPIRAN

<b>Lampiran</b>	<b>Halaman</b>
1. Kebun Budidaya Ubi Kayu Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI .....	63
2. Optimasi Primer dengan Variasi Suhu <i>Annealing</i> .....	64
3. Well Map qRT-PCR .....	65
4. Grafik <i>Melt Peak</i> dan <i>Amplification Curve</i> Gen <i>GBSS1</i> .....	66
5. Grafik <i>Melt Peak</i> dan <i>Amplification Curve</i> Gen <i>GBSS2</i> .....	67
6. Grafik <i>Melt Peak</i> dan <i>Amplification Curve</i> Gen <i>SBE3</i> .....	68
7. Grafik <i>Melt Peak</i> dan <i>Amplification Curve</i> Gen <i>SBE2.2</i> .....	69
8. Grafik <i>Melt Peak</i> dan <i>Amplification Curve</i> Gen <i>SBE2.1</i> .....	70
9. Grafik <i>Melt Peak</i> dan <i>Amplification Curve</i> Gen <i>DBE</i> .....	71
10. Grafik <i>Melt Peak</i> dan <i>Amplification Curve</i> Gen <i>SS</i> .....	72
11. Grafik <i>Melt Peak</i> dan <i>Amplification Curve</i> Gen <i>GWD</i> .....	73
12. Visualisasi Sampel Hasil qRT-PCR.....	74
13. Pengolahan Data Ekspresi <i>Housekeeping Gene</i> .....	79
14. Pengolahan Data Ekspresi Gen Sampel .....	83
15. Hasil <i>Alingment</i> Gen <i>GBSS1</i> dan <i>GBSS2</i> .....	90

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **A. Latar Belakang**

Ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz) adalah tanaman tahunan yang berasal dari daerah tropis Amerika Selatan (Saleh dkk., 2016). Meskipun bukan tanaman asli Indonesia, ubi kayu menjadi salah satu tanaman yang berkembang luas hampir di seluruh wilayah Indonesia. Menurut Shackelford *et al.*, (2018), Indonesia adalah negara ketiga dengan produksi ubi kayu terbesar di dunia, dengan produksi sebesar 23 juta ton/tahun.

Ubi kayu banyak dimanfaatkan pada produksi pangan, papan dan biofuel (Saithong *et al.*, 2013). Besarnya pemanfaatan ubi kayu dibidang industri karena tingginya kandungan pati pada umbi tanaman tersebut (Ceballos,*et al.*, 2010).

Pati merupakan komponen penting yang terdapat pada ubi kayu. Sintesis pati terbesar terjadi saat fase pertumbuhan dan perkembangan jaringan, terutama pada organ penyimpanan (Putri dan Zubaidah, 2017). Akar penyimpanan pada tanaman ubi kayu memiliki ukuran granula 13,97-18,73  $\mu\text{m}$ , yang mengandung 65-91% pati (Ceballos *et al.*, 2010).

Secara umum pati terdiri atas dua jenis polimer, yaitu amilosa dan amilopektin (Charoenkul *et al.*, 2006; Zhu, 2015). Kandungan amilosa dan amilopektin pada pati, dari berbagai jenis tanaman berbeda-beda. Perbandingan amilosa dan amilopektin pada beras dan ubi kayu adalah 17:83. Sedangkan untuk kentang dan jagung, memiliki kandungan amilopektin lebih tinggi dari amilosa, dengan perbandingan 21:79 dan 26:74 masing-masingnya (Putri dan Zubaidah, 2017).

Proporsi kandungan amilosa dan amilopektin menjadi faktor penentu sifat fisikokimia pati dalam pemanfaatan dibidang industri. Pati yang mengandung amilopektin yang tinggi dapat digunakan dalam industri dinding panel gipsum, industri kertas, lem, dan industri konstruksi. Sedangkan, pati dengan kandungan amilosa yang tinggi, dimanfaatkan dalam industri pangan (Baguma, 2004) dan industri bioetanol (Ginting *et al.*, 2014).

Berdasarkan penelitian Anggraini *et al.*, (2009) kadar amilosa pada beberapa varietas ubi kayu di Indonesia memiliki nilai yang bervariasi yaitu; Adira 4 (19,1%), Perelek (16,9%), Manihot (21,3%), Mentega (17,4%), dan Adira 1 (20,2%). Bahkan variasi kandungan amilosa yang dilaporkan oleh Aryee *et al.*, (2006), memiliki nilai yang lebih beragam yaitu untuk varietas dengan kode nama 193/0548 (44,3%), 94/0050 (10,9%) dan 087/0067 (22,6%).

Fluktuasi kadar dan kualitas pati ubi kayu yang tidak spesifik, menyebabkan perlunya upaya perbaikan kandungan dan komposisi pati ubi kayu yang sesuai dengan kebutuhan industri. Perbaikan kandungan dan komposisi ubi kayu dapat dilakukan melalui pemuliaan tanaman terarah dengan bantuan informasi genetik terkait biosintesis pati. Salah satu cara untuk memahami jalur biosintesis pati dilakukan dengan mengungkap pola ekspresi dan regulasi gen-gen yang mengkode enzim biosintesis pati.

Dalam Tappiban *et al.*, (2019) menjelaskan bahwa enzim-enzim yang berperan dalam katalisis pembentukan pati ubi kayu adalah sucrose synthase (SuSy), UDPG pyrophosphorylase (UGPase), fructokinase (FRK), cytosol phosphoglucomutase (cPGM), plastidial phosphoglucomutase (pPGM), adenosine diphosphate glucose pyrophosphorylase (AGPase), granule bound starch synthase

(GBSS), starch synthase (SS), starch branching enzyme (SBE), de-branching enzyme (DBE), dan glucan water dikinase (GWD). Kandidat gen-gen yang mengkode enzim tersebut sudah dilaporkan pada beberapa penelitian, sehingga dapat digunakan sebagai acuan untuk mengetahui regulasi biosintesis pati pada ubi kayu (Baguma, 2004; Beyene *et al.*, 2010; Smith, 2001; Tappiban *et al.*, 2019). Namun, secara molekular belum dipahami dengan baik tingkat ekspresi gen-gen yang berperan dalam biosintesis pati pada ubi kayu.

Salah satu cara mengetahui tingkat ekspresi gen adalah dengan *quantitative Real-Time PCR* (qRT-PCR), yang dapat mengkuantifikasi dan mendeteksi secara bersamaan satu atau lebih urutan tertentu sekuen DNA target. Kelebihan penggunaan metode ini adalah proses pengerjaan yang cepat, lebih sensitif dan akurat (Derveaux *et al.*, 2010). qRT-PCR memungkinkan untuk melakukan pengamatan pada saat reaksi berlangsung dalam bentuk grafik sebagai hasil akumulasi fluoresensi dari penanda (probe) (Benes and Castoldi, 2010). Data kuantitatif qRT-PCR diperoleh dari jumlah salinan gen (*copy number*) yang diperhitungkan dengan kurva standar. Analisis pola ekspresi gen dilakukan dengan membandingkan nilai rata-rata *Cycle threshold* (Ct) gen penyandi sintesis pati dengan rata-rata Ct *housekeeping gene* (Amir, 2014).

*Housekeeping gene* adalah gen yang diekspresikan pada semua jaringan, yang secara umum terlibat dalam metabolisme selular seperti sintesis DNA, sintesis protein atau metabolisme energi (Brenner *et al.*, 2002). Fungsi *housekeeping gene* dalam analisis qRT-PCR sebagai standar pembanding yang tepat agar tidak terjadi kesalahan interpretasi hasil ekspresi gen yang berbeda di setiap sampel uji (Nygard *et al.*, 2007).

Usaha pemuliaan tanaman dengan mengkaji keterkaitan gen yang berperan dalam sintesis pati sebelumnya pernah dilakukan oleh Zhao *et al.*, (2011) yang melaporkan bahwa gen *GBSSI* berperan dalam biosintesis pati, khususnya dalam sintesis amilosa. Percobaan yang dilakukan berupa menghambat ekspresi gen *GBSSI* menggunakan *GBSSI-RNAi*. Hasil penelitian tersebut menunjukkan pati transgenik mengalami pengurangan kadar amilosa secara signifikan (<5%) dibandingkan tanaman liar (25%). Akan tetapi, hanya 30% tanaman transgenik yang menunjukkan penurunan ekspresi *GBSSI* secara signifikan pada level RNA. Fakta tersebut memicu pertanyaan apakah terdapat gen lain yang berperan dalam pembentukan amilosa pada biosintesis pati. Oleh karena itu, diperlukan pengujian lebih lanjut untuk mengetahui informasi mengenai ekspresi gen-gen penyandi enzim terkait biosintesis pati lain yang belum diketahui.

Peneliti akan menganalisis pola ekspresi gen penyandi biosintesis pati, yang akan menjadi titik dasar acuan pemanfaatan modifikasi pati secara molekuler. Diharapkan penelitian ini dapat digunakan sebagai dasar pemuliaan tanaman ubi kayu transgenik dengan kandungan pati spesifik. Berdasarkan uraian di atas, maka dilakukan penelitian yang berjudul: “Pola Ekspresi Gen Penyandi Enzim Biosintesis Pati pada Umbi Ubi Kayu (*Manihot esculenta* Crantz)”

## B. Rumusan Masalah

1. Bagaimana rancangan primer terbaik untuk amplifikasi gen-gen yang berperan pada biosintesis pati ubi kayu?
2. Bagaimana pola ekspresi gen-gen yang berperan pada biosintesis pati pada ubi kayu?

3. Mengidentifikasi gen-gen apa saja yang berperan dalam biosintesis pati ubi kayu?

#### **C. Tujuan Penelitian**

1. Merancang primer yang akan digunakan untuk menganalisis ekspresi gen-gen yang berperan pada biosintesis pati ubi kayu.
2. Mengetahui pola ekspresi gen-gen yang berperan pada biosintesis pati pada ubi kayu.
3. Mengidentifikasi kandidat gen yang berperan dalam biosintesis pati ubi kayu.

#### **D. Manfaat Penelitian**

1. Sebagai dasar pemuliaan tanaman untuk memperoleh ubi kayu dengan kandungan pati spesifik.
2. Memahami pola biosintesis pati ubi kayu.
3. Sebagai dasar ilmu bioteknologi dalam pemanfaatan tanaman dibidang industri.
4. Sebagai informasi serta bahan acuan awal untuk penelitian selanjutnya.