

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Biodiversitas tumbuhan di dunia saat ini menghadapi ancaman kepunahan yang sangat serius akibat perubahan iklim, deforestasi, dan aktivitas antropogenik. Menurut laporan global dari *International Union for Conservation of Nature* (IUCN), lebih dari 40% spesies tumbuhan di dunia terancam punah, dengan laju kehilangan keanekaragaman hayati mencapai 100-1000 kali lipat dari kecepatan alamiah (Antonelli *et al.*, 2020). Penelitian terbaru menunjukkan bahwa wilayah tropis, termasuk Indonesia, merupakan *hotspot* biodiversitas yang paling rentan, dengan kehilangan spesies tumbuhan mencapai 0,5-1% per tahun (Slik *et al.*, 2021).

Selain itu ketidakstabilan genom tumbuhan langka pula menyebabkan tumbuhan langka tidak dapat beradaptasi dengan lingkungannya, hal ini disebabkan oleh tekanan lingkungan, fragmentasi habitat, atau populasi kecil yang meningkatkan risiko mutasi dan hilangnya keragaman genetik. Kondisi ini dapat mengganggu fungsi gen penting, sehingga mempengaruhi kemampuan tumbuhan untuk beradaptasi terhadap perubahan lingkungan. Akibatnya, tumbuhan langka menjadi semakin rentan terhadap kepunahan, terutama di tengah perubahan iklim dan gangguan ekosistem yang terus meningkat.

Aktivitas manusia pula sering kali berperan dalam penurunan jumlah spesies tumbuhan, yang pada akhirnya menyebabkan kelangkaan spesies tertentu (Kusmana dan Hikmat, 2015). Faktor-faktor yang dapat menyebabkan penurunan populasi spesies tertentu termasuk penebangan liar, perburuan dan perdagangan liar, transformasi lahan hutan menjadi area industri, dan eksploitasi keanekaragaman hayati tanpa diimbangi dengan upaya budidaya atau perawatan hutan itu sendiri. Aktivitas tersebut juga dapat menyebabkan kelangkaan spesies atau bahkan hilangnya spesies di alam, yang akan mengancam keanekaragaman hayati Indonesia.

Kompleksitas identifikasi dan karakterisasi spesies tumbuhan langka menjadi tantangan utama dalam upaya konservasi, di mana metode tradisional sering kali tidak mampu mengidentifikasi status dan keberadaan spesies secara akurat. Kelemahan serta berbagai keterbatasan pada penanda morfologi memicu

berkembangnya penanda lain untuk proses identifikasi yaitu penanda molekuler DNA (Suparman, 2012). Analisis DNA *barcode* dapat menjadi alternatif untuk menyelesaikan masalah dalam proses identifikasi yang biasanya memakan waktu lama.

Kemajuan teknologi molekuler, khususnya DNA *barcode*, telah membuka peluang baru dalam identifikasi dan monitoring spesies tumbuhan langka secara lebih presisi. Pendekatan *in silico* dengan menggunakan penanda genetik seperti *trnL-F* (bagian dari gen kloroplas) memungkinkan peneliti untuk mengembangkan sistem diagnostik yang cepat, akurat, dan non-destruktif (Kress *et al.*, 2020). Oleh karena itu, perlu dilakukan identifikasi atau pengelompokan terhadap keragaman jenis tumbuhan untuk menyeimbangi laju hilangnya keanekaragaman hayati flora dan fauna yang ada, terutama tumbuhan langka yang terancam punah.

DNA *Barcode* menjadi pusat perhatian taksonom dunia, karena memiliki 2 tujuan, yaitu (1) identifikasi molekuler yang sudah terdeskripsikan; (2) spesies yang belum terdeskripsikan. Karakteristik DNA *barcode* yaitu sekuen DNA bersifat ortholog, memiliki variabilitas yang cukup untuk membedakan antar spesies, dan dapat menunjukkan variabilitas rendah dalam individu yang termasuk spesies yang sama (Nurkamila & Pharmawati, 2014).

Penggunaan DNA *barcode* tidak hanya lebih cepat, tetapi juga dapat langsung mengakses bagian material yang mengendalikan karakter species tersebut. Misalkan, penelitian pada analisis anggrek langka *Paphiopedilum* menunjukkan bahwa gen *matK* menghasilkan *barcode* DNA stabil dengan spesifisitas tinggi (Sindiya, 2018). Karena fungsinya sebagai pembawa informasi genetik, penanda DNA lebih akurat daripada penanda morfologi. Ini adalah keuntungan penanda molekuler dibandingkan penanda morfologi karena penanda DNA stabil dan dapat ditemukan dalam semua jaringan tumbuhan dan tidak terpengaruh oleh kondisi lingkungan tumbuhan. Oleh karena itu, di masa yang akan datang, teknik analisis yang menggunakan DNA *barcode* sangat menjanjikan untuk mendeteksi awal kelangkaan suatu spesies tumbuhan.

Uji keanekaragaman genetik membutuhkan primer yang dapat mengidentifikasi keberadaan alel dalam genotipe tertentu, seperti primer genom kloroplas. Pemanfaatan penanda molekuler berbasis genom kloroplas digunakan

untuk mengidentifikasi dan menganalisis keragaman filogenetik serta genetik antar spesies. DNA kloroplas adalah jenis DNA yang memiliki tingkat rekombinasi genetik yang rendah dan berasal dari garis keturunan maternal (Wang *et al.*, 2013). Gen kloroplas terdiri dari berbagai gen seperti *intergenic spacer trnL-F*, *matK*, dan *rbcL* (Roslim & Fitriani, 2021).

Pemilihan jenis DNA *barcode* dalam studi taksonomi harus memperhatikan beberapa hal yaitu harus ada dalam semua taksa yang dibandingkan, memiliki pengetahuan tentang gen atau wilayah genom lainnya untuk mengembangkan primer, tingkat evolusi gen harus sesuai dengan tingkat takson yang diteliti, mudah dilakukan *alignment*, dan bersifat homolog. *Deoxyribonucleic Acid* kloroplas (cpDNA) memiliki karakteristik yaitu: (1) mempunyai genom berukuran kecil dan struktur yang stabil, (2) genom lebih konservatif dengan rata-rata substitusi nukleotida yang rendah dan (3) genom tidak mengalami rekombinasi dan diturunkan secara uniparental. DNA kloroplas (cpDNA) berbentuk lingkaran dengan rentang ukuran 85-2000 kilobasa (kb). cpDNA mengontrol produksi RNA transfer (tRNA), RNA ribosomal (rRNA), dan sebagian besar protein yang terdapat di dalam organel kloroplas (Consortium Barcode of Life, 2009).

Penanda DNA *trnL-F* (tRNA-Leucine-Phenylalanine) memiliki keunggulan strategis dalam upaya konservasi tumbuhan, terutama untuk identifikasi spesies langka yang memerlukan perhatian khusus. Menurut Zhang *et al.* (2020), penanda *trnL-F* memiliki keistimewaan yaitu mampu menghasilkan amplifikasi DNA dengan tingkat efisiensi tinggi pada berbagai kondisi genom tumbuhan, dengan tingkat keberhasilan mencapai 92,3% pada spesimen tumbuhan yang sulit diambil atau diisolasi DNA-nya. Lebih lanjut, Cheng *et al.* (2019) mengemukakan bahwa penanda *trnL-F* memiliki karakteristik unik yaitu ukuran fragmen pendek (500-800 bp) yang memungkinkan proses sekuensing dan analisis filogenetik lebih cepat dan akurat dibandingkan penanda genetik lainnya. Keunggulan lain yang signifikan adalah kemampuannya dalam mendeteksi variasi genetik antar spesies dengan tingkat resolusi molekuler yang sangat baik, sehingga mampu membedakan spesies yang memiliki kemiripan taksonomi tinggi.

Kontribusi penanda *trnL-F* dalam konservasi tumbuhan tidak hanya terbatas pada identifikasi molekuler, tetapi juga mencakup aspek prediksi status kelangkaan

dan pemetaan genetik. Penelitian Ranasinghe *et al.* (2021) membuktikan bahwa penggunaan penanda trnL-F dapat mengidentifikasi keragaman genetik pada populasi tumbuhan langka dengan sensitivitas mencapai 87,6%, yang membantu ilmuwan dalam merancang strategi konservasi yang lebih tepat sasaran. Selain itu, menurut Liu *et al.* (2019), penanda trn-L memiliki keunggulan komparatif dalam mengeksplorasi hubungan filogenetik antar spesies, dengan kemampuan menganalisis evolusi dan migrasi genetik tumbuhan langka. Metode ini tidak hanya memberikan informasi genetik komprehensif, tetapi juga memberikan wawasan mendalam tentang dinamika populasi, yang sangat kritis dalam upaya pelestarian keanekaragaman hayati di era tantangan perubahan iklim global. Menurut Chen *et al.* (2013), trnL-F dapat mendeteksi gametofit dengan baik, dan memiliki tingkat substitusi yang lebih tinggi daripada rbcL dan matK.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dipaparkan, permasalahan yang dapat dirumuskan dari penelitian ini adalah “Bagaimana penggunaan DNA *barcode* untuk deteksi tumbuhan langka atau tidak melalui perancangan primer diagnostik secara *in silico* menggunakan penanda trnL-F?”.

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah tersebut, tujuan dari penelitian ini yakni untuk mendapatkan primer diagnostik untuk deteksi tumbuhan langka atau tidak menggunakan penanda trnL-F secara *in silico*.

1.4 Batasan Penelitian

Beberapa aspek yang membatasi dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a) Penelitian ini dilakukan melalui pendekatan *in silico*.
- b) Penggunaan data berupa sekuen DNA yang berasal dari GenBank NCBI.
- c) Penanda DNA yang digunakan yaitu trnL-F.
- d) Status kelangkaan diperoleh dari *International Union for Conservation of Nature* (IUCN) dengan kategori kritis (*critically endangered/CR*), terancam (*endangered/EN*), dan rentan (*vulnerable/VU*).

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat yang dapat diperoleh dari penelitian ini diantaranya :

- a) Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan solusi untuk membantu proses identifikasi tumbuhan langka dengan cepat dan tepat dengan mengembangkan primer diagnostik menggunakan penanda *trnL-F*.
- b) Memberikan kontribusi dalam upaya konservasi tumbuhan langka primer diagnostik menggunakan penanda *trnL-F*
- c) Hasil penelitian ini diharapkan dapat berfungsi sebagai referensi untuk penelitian selanjutnya yang berkaitan dengan pembuatan dan pengembangan diagnostik primer untuk identifikasi tumbuhan.