

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Kepunahan spesies tumbuhan telah muncul sebagai salah satu tantangan lingkungan paling signifikan yang dihadapi umat manusia di abad ke-21. Banyak spesies tumbuhan di seluruh dunia menghadapi ancaman kepunahan yang meningkat, yang terutama disebabkan oleh tindakan manusia, termasuk perusakan habitat, perburuan berlebihan, perubahan iklim, dan polusi. Meskipun telah bertahun-tahun didedikasikan untuk inisiatif konservasi, laju kepunahan spesies terus meningkat. Penurunan spesies ini tidak hanya memengaruhi keanekaragaman hayati Bumi tetapi juga mengganggu keseimbangan ekosistem yang menopang keberadaan manusia (Candra & Heri, 2023).

Keanekaragaman hayati memainkan peran penting dalam mempertahankan fungsi ekosistem yang sehat. Keanekaragaman hayati mencakup beragam spesies tumbuhan, hewan, dan mikroorganisme yang terlibat dalam interaksi dalam rantai makanan, berkontribusi pada penyerbukan tanaman, dan memfasilitasi penguraian bahan organik. Ekosistem yang dicirikan oleh keanekaragaman spesies yang tinggi menunjukkan stabilitas yang lebih baik dan mampu memberikan berbagai layanan ekosistem, termasuk pengaturan hama alami dan produksi pangan. Aktivitas manusia menimbulkan ancaman signifikan terhadap keanekaragaman hayati, yang dapat menyebabkan gangguan ekosistem, penurunan produktivitas alami, dan membahayakan ketahanan pangan global (Candra & Heri, 2023).

Dalam menghadapi krisis kepunahan spesies dan penurunan keanekaragaman hayati, teknologi genomika modern menjadi alat penting dalam upaya konservasi. Genomika dapat memungkinkan untuk memahami lebih dalam genetika individu dan populasi spesies yang terancam punah. Dengan menganalisis genom, ilmuwan dapat kerentanan genetik, memahami hubungan antar individu dalam populasi, serta merancang strategi konservasi yang lebih efektif. Strategi ini meliputi pemilihan pasangan kawin yang memiliki keragaman genetik dan pengelolaan populasi yang berkelanjutan. Genomik konservasi merupakan bidang studi yang

berkembang pesat dan menawarkan optimisme baru bagi berbagai inisiatif yang bertujuan melestarikan mengidentifikasi keanekaragaman hayati.

Dengan memperoleh data genetik yang lebih komprehensif, serta merancang strategi konservasi yang lebih tepat dan efektif, sehingga memastikan kelangsungan hidup spesies yang terancam punah dan kontribusi penting mereka terhadap keseimbangan ekosistem. Meskipun demikian, kemanjuran genomik konservasi bergantung pada dukungan kebijakan konservasi yang sesuai dan pemahaman publik yang lebih tinggi mengenai pentingnya pelestarian keanekaragaman hayati. Sebagai instrumen inovatif, genomik konservasi memainkan peran penting dalam mempertahankan keseimbangan ekosistem dan mencegah kepunahan spesies.

Indonesia dikenal sebagai negara dengan Mega Biodiversitas serta memiliki keunikan biodiversitas yang tinggi sehingga termasuk ke dalam *Hotspot* biodiversitas yang merupakan wilayah geografis yang memiliki keanekaragaman hayati (biodiversitas) yang sangat tinggi, termasuk banyak spesies endemik, tetapi juga menghadapi ancaman serius terhadap kelestariannya, seperti hilangnya habitat atau degradasi lingkungan. (Trimanto & Sofiah, 2018). Menurut *National Geographic Indonesia* (2019), Indonesia menempati urutan kedua dalam keanekaragaman hayati daratan setelah Brazil, namun jika digabungkan dengan keanekaragaman hayati laut, Indonesia menjadi negara dengan keanekaragaman hayati tertinggi di dunia. Pada tahun 2017, Indonesia memiliki 31.750 jenis tumbuhan yang telah teridentifikasi (Retnowati dan Rugayah, 2019), dengan 25.000 di antaranya adalah tumbuhan berbunga (LIPI, 2021). Selain itu, LIPI (2021) juga menyebutkan bahwa Indonesia memiliki sekitar 15.000 tumbuhan yang berpotensi sebagai tanaman obat, meskipun baru sekitar 7.000 spesies yang dimanfaatkan sebagai bahan baku obat.

Indonesia juga dikenal sebagai negara dengan tingkat penurunan keanekaragaman hayati (flora dan fauna) yang tinggi. Dari 20 negara yang spesies alamnya terancam, Indonesia menempati peringkat kelima (Sutarno dan Setyawan, 2015). Selain itu, menurut *National Geographic Indonesia* (2019), Untuk mencegah atau mengurangi laju penurunan keanekaragaman hayati ini, Indonesia perlu

melakukan dan mengembangkan upaya konservasi, baik secara *in situ* maupun *ex situ* (Utami, 2018; Widyatmoko, 2019).

Salah satu lokasi pelestarian tumbuhan langka adalah di hutan konservasi, yang merupakan jenis hutan sekunder. Tumbuhan diteliti dan dibudidayakan di habitat aslinya dengan bantuan manusia untuk mencegah kepunahan. Dalam dunia tumbuhan, terdapat dua istilah yang membedakan antara tumbuhan langka dan tumbuhan endemik. Berdasarkan Kamus Besar Bahasa Indonesia (KBBI), kata "langka" berarti jarang didapatkan atau jarang ditemukan. Tumbuhan dikategorikan sebagai langka dan harus dilindungi jika populasinya sedikit, jumlah individunya di alam menurun secara drastis, atau persebarannya terbatas (endemik). Dengan demikian, tumbuhan yang terancam punah dapat dianggap sebagai sumber daya alam yang bernilai tinggi, dengan jumlah yang kecil dan persebaran yang terbatas, sehingga pelestariannya sangat penting. Menurut IUCN (2019), Indonesia merupakan salah satu negara dengan spesies tumbuhan paling terancam punah di dunia. Sekitar 240 jenis tumbuhan saat ini dinyatakan terancam punah, termasuk banyak di antaranya yang merupakan tumbuhan budidaya. Kondisi ini menjadi dasar pentingnya keberadaan fasilitas yang dapat memberikan edukasi dan meningkatkan pengetahuan masyarakat mengenai proses budidaya tanaman langka. Tumbuhan yang terancam punah diklasifikasikan dalam IUCN *Red List of Threatened Species*, sebagai daftar status spesies rentan meliputi : Punah atau *Extinct* 3 (EX), Punah di Alam Liar *Extinct in the Wild* (EW), Kritis atau *Critically Endangered* (CR), Genting atau Terancam atau *Endangered* (EN), Rentan atau *Vulnerable* (VU), Hampir Terancam atau *Near Threatened* (NT), Berisiko Rendah atau *Least Concern* (LC), Belum dievaluasi atau *Not Evaluated* (NE), Informasi Kurang atau *Data Deficient* (DD).

Perkembangan teknologi pada akhir abad ke-20 turut mendorong kemajuan dalam penelitian biodiversitas dan sistematika tumbuhan, terutama melalui kemajuan dalam bidang biologi molekuler. Salah satu penerapannya yaitu dalam proses deteksi jenis tumbuhan secara molekuler menggunakan metode DNA *barcoding*. Penggunaan penanda molekuler (*barcode*) memiliki sejumlah keunggulan, antara lain memberikan hasil deteksi yang lebih konsisten,

memungkinkan deteksi pada berbagai jenis jaringan tumbuhan di berbagai tahap perkembangan, serta tidak terpengaruh oleh faktor lingkungan (Nurkamila & Pharmawati, 2014). Semakin pesatnya ilmu pengetahuan dan perkembangan teknologi saat ini, maka terdapat teknik yang cepat untuk deteksi suatu spesies yaitu teknik DNA barcoding yang dapat dijadikan sebagai penanda (Valentini *et al.*, 2009). Menurut Bangol *et al.* (2014) teknik DNA *barcode* dapat dijadikan sebagai penanda pada proses deteksi tanaman langka dengan mudah dan cepat. Teknik DNA *barcode* memanfaatkan segmen DNA tertentu dan memiliki sejumlah keunggulan, di antaranya dapat digunakan untuk karakterisasi serta deteksi berbagai spesies yang sulit dibedakan secara morfologis, membutuhkan sampel dalam jumlah minimal, dan dapat diperoleh dari seluruh organ hewan maupun tumbuhan (Rahayu & Jannah, 2019). Berdasarkan Kress (2017), metode DNA *barcode* juga berperan dalam membedakan spesies sekaligus mendukung upaya pelestarian terhadap spesies yang terancam punah. Bioinformatika merupakan cabang ilmu yang termasuk dalam pendekatan *in silico*, yang menggunakan perangkat lunak berbasis komputer untuk memproses dan menganalisis data biologi molekuler. Hasil dari pendekatan *in silico* dapat divalidasi melalui pendekatan *in vivo* maupun *in vitro* di laboratorium. Menurut Witarto dan Sajidan (2010), penerapan metode *in silico* dalam penelitian mampu mempercepat waktu pelaksanaan dengan memanfaatkan perangkat lunak komputer, serta menekan biaya operasional, sehingga lebih efisien dibandingkan dengan pendekatan penelitian konvensional.

Penanda molekuler yang umum digunakan dalam analisis taksonomi tumbuhan meliputi gen-gen dari genom kloroplas seperti *rbcL* dan *matK*. Diantara keduanya, gen *matK* lebih sering digunakan karena memiliki tingkat variasi sekuen yang lebih tinggi dan laju evolusi yang lebih cepat dibandingkan dengan *rbcL*, sehingga lebih mampu membedakan tumbuhan hingga ke tingkat spesies (Li *et al.*, 2023). Selain itu, penelitian sebelumnya juga menunjukkan bahwa *matK* memiliki tingkat akurasi identifikasi spesies yang tinggi, mencapai 97,42%, berdasarkan tingkat kesesuaian sekuen terhadap data yang tersedia di GenBank (Kolondam *et al.*, 2012). Meskipun penanda dari genom kloroplas seperti *matK* sangat bermanfaat, penggunaan penanda dari genom nuklir seperti 18S *intergenic spacer* juga memiliki nilai

penting, terutama karena lokasinya di wilayah ribosom DNA yang memiliki konservasi tinggi dalam satu spesies dan variasi signifikan antar spesies. Hal ini menjadikan 18S *intergenic spacer* sebagai alternatif atau pelengkap yang efektif untuk deteksi molekuler, terutama dalam kasus di mana penanda kloroplas kurang mampu membedakan spesies yang sangat berkerabat dekat. Integrasi antara penanda nuklir seperti 18S IGS dan kloroplas seperti matK dapat meningkatkan keakuratan serta ketepatan dalam studi filogenetik dan konservasi tumbuhan langka.

DNA *barcoding* merupakan salah satu instrumen penting dalam penelitian yang membutuhkan basis data sekuens untuk keperluan deteksi spesies secara akurat. Berdasarkan Lucas (2012), metode *barcoding* yang efektif umumnya menggunakan sepasang primer. Primer sendiri merupakan untai pendek DNA sintesis yang umumnya terdiri dari 18 hingga 25 nukleotida, berfungsi dalam proses penempelan pada cetakan DNA spesifik dan menjadi titik awal sintesis rantai DNA berikutnya (Nuryady *et al.*, 2020). Proses seleksi primer dilakukan untuk memperoleh primer acak yang mampu menghasilkan pita DNA sebagai penanda, dengan mempertimbangkan jumlah pita atau lokus yang terbentuk. Gusmiaty (2012) menyatakan bahwa proses pemilihan primer dilakukan melalui serangkaian reaksi PCR menggunakan beberapa primer berbeda pada sampel DNA yang sama dan dalam kondisi reaksi yang seragam, guna menentukan kondisi optimal serta variasi pita yang dihasilkan oleh setiap primer. Berdasarkan penelusuran melalui *National Center for Biotechnology Information* (NCBI), yang merupakan sistem terintegrasi dengan berbagai basis data sekuens internasional, masih banyak spesies tumbuhan yang belum memiliki data sekuens lengkap atau bahkan belum tersedia untuk gen 18S *intergenic spacer*. Oleh karena itu, penelitian ini difokuskan pada pencarian pasangan primer yang sesuai untuk mendeteksi kelangkaan spesies tumbuhan berdasarkan penanda 18S *intergenic spacer* secara *in silico*, sehingga dapat dikembangkan sebagai DNA *barcoding* bagi tumbuhan langka.

1.2. Rumusan Masalah

Rumusan masalah penelitian ini adalah “Bagaimana penggunaan penanda 18S *intergenic spacer* dalam mendeteksi tumbuhan langka melalui perancangan primer diagnostik secara *in silico*?”

1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah mendapatkan primer diagnostik yang dirancang secara *in silico* untuk mendeteksi tumbuhan langka dengan menggunakan penanda 18S *intergenic spacer*.

1.4. Batasan Penelitian

Beberapa hal yang membatasi dalam penelitian ini adalah:

- 1) Penelitian dilakukan melalui pendekatan *in silico* menggunakan penanda 18S *intergenic spacer*.
- 2) Sampel terdiri dari 16 jenis tumbuhan langka di Dunia.
- 3) Data sekunder berupa sekuan DNA spesies tumbuhan langka berdasarkan penanda 18S *Intergenic Spacer* diperoleh dari *National Center for Biotechnology Information* (NCBI).
- 4) Status kelangkaan yang diperoleh dari *Intertional Union For Conservation of Nature* (IUCN).

1.5. Manfaat Penelitian

Manfaat yang didapatkan dari penelitian adalah:

- 1) Mendeteksi serta deteksi tumbuhan langka menggunakan pengembangan diagnostik primer menggunakan penanda 18S *Intergenic Spacer*.
- 2) Mengetahui informasi primer dari urutan dan susunan sekuen DNA *barcode* yang digunakan untuk mendeteksi kelangkaan tumbuhan secara efektif.
- 3) Sebagai informasi dalam pengembangan primer.
- 4) Sumber informasi penelitian dalam pendekatan *in silico*.

1.6. Struktur Organisasi Skripsi

1) Bab I Pendahuluan

Mencakup latar belakang, perumusan masalah, pertanyaan penelitian, tujuan penelitian, batasan masalah, dan manfaat penelitian. Latar belakang penelitian ini berkaitan dengan peningkatan jumlah tumbuhan langka di Indonesia yang terancam punah akibat berbagai faktor dan minimnya data tumbuhan langka yang telah terdeteksi. Oleh karena itu, diperlukan langkah-langkah untuk mengatasi masalah tersebut melalui pengembangan diagnostik primer untuk mendeteksi kelangkaan tumbuhan berdasarkan penanda 18S *intergenic spacer* secara *in silico*.

2) Bab II Tinjauan Pustaka

Kajian pustaka dalam skripsi ini menjelaskan tentang biodiversitas Indonesia, tumbuhan langka dan status kelangkaannya, hubungan antara ketidakstabilan genom dan kelangkaan, studi *in silico*, bioinformatika, DNA *barcode* dan analisisnya, serta penanda 18S *intergenic spacer*. Teori-teori ini nantinya dapat dikaitkan dengan hasil penelitian yang telah dilakukan.

3) Bab III Metode

Membahas metode penelitian yang meliputi jenis penelitian, waktu dan tempat pelaksanaan, alat dan bahan yang digunakan, prosedur penelitian, serta alur penelitian yang dijalankan. Dalam bagian prosedur penelitian, dijelaskan tahapan pengumpulan data sekunder mengenai tumbuhan langka berdasarkan penanda 18S *intergenic spacer*, pensejajaran sekuen, pembuatan konsensus, desain primer, uji coba *in silico* PCR, dan analisis data yang diperoleh.

4) Bab IV Temuan dan Pembahasan

Menyajikan temuan dan pembahasan yang mencakup hasil penelitian yang telah dilaksanakan serta analisisnya. Dua temuan utama yang dibahas adalah kandidat primer untuk tumbuhan langka berdasarkan penanda 18S *intergenic spacer* dari hasil desain primer dan uji *in silico* PCR menggunakan kandidat primer tersebut pada tumbuhan langka. Hasil penelitian ini dijelaskan secara rinci dan dihubungkan semaksimal dengan temuan atau teori dari literatur yang sejalan dengan penelitian sebelumnya

5) Bab V Simpulan, Implikasi, dan Rekomendasi.

Pada bab ini disajikan kesimpulan dari hasil temuan dan pembahasan penelitian, serta implikasi yang muncul dari penelitian tersebut. Selain itu, bab ini juga memberikan rekomendasi bagi pihak-pihak yang tertarik untuk melakukan penelitian lebih lanjut dengan topik yang serupa.