

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki tingkat keanekaragaman tumbuhan yang tinggi dan beragam. Indonesia sendiri diperkirakan memiliki 20.000 spesies tumbuhan berbunga (Angiospermae atau Anthophyta), yaitu sekitar 25% jumlah spesies tumbuhan yang terdapat di dunia dan sekitar 40% nya adalah tumbuhan endemik atau asli Indonesia (Kusmana & Hikmat, 2015). Beberapa faktor yang menyebabkan tingginya keanekaragaman tumbuhan di Indonesia adalah posisi geografisnya terletak di daerah tropis dan iklim yang stabil sepanjang tahun, posisi geologisnya di antara pertemuan lempeng tektonik sehingga memiliki banyak mineral yang dapat menunjang kehidupan tumbuhan atau keanekaragaman lainnya. Indonesia memiliki paling sedikit 5.000 spesies tumbuhan endemik dan ekosistem laut (*marine*), serta menghasilkan variasi genetik yang berlimpah. Indonesia juga tidak hanya sebagai negara *mega biodiversity* melainkan memiliki tingkat endemisme yang sangat tinggi (Williams *et al.*, 1995). Data jumlah keanekaragaman tumbuhan di Indonesia, setiap tahunnya mengalami peningkatan. Penambahan jumlah spesies tumbuhan di tahun 2017 terbanyak terdapat pada kelompok Spermatophyta yaitu sekitar 5.400 jenis yang terdiri atas 5.385 jenis kelompok Angiospermae dan 15 jenis kelompok Gymnospermae (Retnowati *et al.*, 2019). Bertambahnya jumlah spesies tumbuhan baru yang khas dan endemik maka keanekaragaman tumbuhan di Indonesia menjadi lebih meningkat sehingga perlu dilakukan upaya dalam membangun suatu strategi untuk menjaga dan melestarikan tumbuhan beserta ekosistemnya, terutama tumbuhan langka yang terancam punah. Tumbuhan langka yang terancam punah di Indonesia terus mengalami peningkatan setiap tahunnya. Dimana terdapat 437 spesies tumbuhan langka yang terancam punah. Beberapa suku tumbuhan Indonesia yang spesiesnya terancam punah diantaranya adalah Dipterocarpaceae mencapai 33%, Myristicaceae mencapai 12%, Nepenthaceae mencapai 7%, dan Orchidaceae mencapai 5% (Widyatmoko, 2019). Menurunnya populasi spesies tumbuhan langka di Indonesia diakibatkan karena ulah manusia dan faktor lingkungan. Faktor ulah manusia ini yang lebih dominan menjadi penyebab menurunnya atau hilangnya suatu spesies tumbuhan langka.

Bertambahnya populasi manusia juga mengakibatkan kebutuhan manusia menjadi meningkat sehingga habitat seperti hutan menjadi hilang karena dimanfaatkan secara berlebihan, adanya perubahan fungsi lahan, penebangan ilegal dan terjadinya pencemaran lingkungan (Hidayat, 2012; Widyatmoko, 2019). Novianty (2016), mengemukakan bahwa deforestasi dan degradasi hutan mengakibatkan populasi tumbuhan berkurang hingga mengarah ke status terancam punah. Tumbuhan terancam punah di Indonesia yang disebabkan oleh rusaknya habitat mencapai 120 spesies tumbuhan, diantaranya berasal dari suku Dipterocarpaceae 25%, Orchidaceae 18.33%, Fabaceae 7.5% (IUCN, 2018). Masuknya spesies asing invasif (*Invasive Alien Species* atau IAS) ke dalam suatu habitat dapat mengancam kestabilan habitat alami tersebut dan menyebabkan spesies asli menjadi punah. Tumbuhan invasif mampu tumbuh mendominasi, bereproduksi, dan menyebar dengan cepat di berbagai kondisi lingkungan sehingga terjadi penurunan populasi tumbuhan endemik dan langka. Hal ini menjadikan spesies asing invasif menjadi ancaman terbesar bagi ekosistem setelah rusaknya habitat hutan (Utami, 2018; Widyatmoko, 2019).

Salah satu faktor lingkungan yang dapat mengancam suatu ekosistem dan tumbuhan langka di Indonesia adalah terjadinya perubahan iklim. Perubahan iklim menyebabkan laju kepunahan menjadi lebih tinggi dari waktu sebelumnya (Lubis, 2011). Menurut data IUCN (<https://www.iucnredlist.org>), terdapat 240 spesies tumbuhan yang dinyatakan langka dan beberapa spesies terancam oleh dampak dari perubahan iklim diantaranya adalah *Paphiopedilum lowii*, *P. javanicum*, *P. hookerae*, dan *P. bullenianum*, spesies tersebut rentan terhadap kenaikan suhu. Kenaikan suhu dapat menjadi tantangan bagi tumbuhan untuk bisa beradaptasi dengan lingkungannya sehingga tumbuhan akan sulit bertahan hidup dan akan punah hingga akan mati. Faktor faktor tersebut dapat menyebabkan ketidakstabilan genom pada tumbuhan langka sehingga tumbuhan akan sulit beradaptasi dengan lingkungannya. Spesies langka memiliki variasi genetik yang rendah dari pada spesies yang umum, sehingga lebih mudah punah jika kondisi lingkungan berubah (Williams *et al.*, 1995). Tumbuhan langka terancam punah masih banyak yang belum teridentifikasi. Menurut Widyatmoko (2019), terdapat 164 spesies tumbuhan di Indonesia yang teridentifikasi membutuhkan aksi konservasi karena terancam.

Berbagai upaya dan konservasi telah dilakukan untuk melindungi spesies tumbuhan langka yang terancam punah. Tetapi pada kenyataannya banyak kendala seperti kurangnya sumber daya dan membutuhkan waktu yang lama. Pada beberapa spesies diperlukan tindakan secepat mungkin untuk dilakukan konservasi (Hamidi, 2019).

Seiring dengan berkembangnya pengetahuan dan teknologi baru, maka ditemukan cara atau teknik untuk mengidentifikasi kelangkaan tumbuhan dengan cepat dan akurat. Teknik tersebut adalah DNA *Barcoding* (Saddhe & Kumar, 2018). DNA *Barcoding* merupakan teknik mempermudah dan mempercepat proses identifikasi suatu spesies dengan menggunakan sekuen DNA pendek. Menurut Jannah & Rahayu (2019), awalnya proses identifikasi dilakukan berdasarkan karakteristik morfologi, tetapi cara ini dinilai kurang konsisten karena bersifat subjektif, diperlukan waktu yang lama, dan ekspresinya sangat dipengaruhi oleh lingkungan. Karena kelemahan ini, maka proses identifikasi dilakukan menggunakan karakter DNA (*barcode*) yang memiliki beberapa keuntungan diantaranya adalah menunjukkan hasil konsisten dan tidak dipengaruhi oleh lingkungan (Sindiya *et al.*, 2018). DNA seperti DNA lingkungan (eDNA) dapat digunakan sebagai alat untuk mendeteksi spesies langka dengan menggunakan PCR kuantitatif (qPCR) (Wilcox *et al.*, 2013). Salah satu kandidat gen atau penanda yang dapat digunakan untuk DNA *Barcoding* pada tumbuhan adalah *rbcL* (*ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit*) dari genom kloroplas (Hollingsworth *et al.*, 2009a). Gen *rbcL* mengkode protein RuBisCO yang berperan dalam proses fotosintesis, sehingga ada hampir di setiap semua spesies tumbuhan. Gen *rbcL* ini memiliki panjang sekitar 1.400 bp dan menyediakan banyak karakter sehingga memberikan keuntungan dalam penelitian variasi genetik dan filogenetik intraspesies. Gen *rbcL* memiliki tingkat keberhasilan amplifikasi dan sekuensing yang tinggi hanya dengan satu atau dua macam primer (Fazekas *et al.*, 2008; Plant & Group, 2009; Basith, 2015). Penggunaan penanda molekuler dapat digunakan untuk deteksi ketidakstabilan genom pada tumbuhan (Leroy *et al.*, 2000).

Penggunaan DNA *barcode* dengan gen atau penanda *rbcL* dalam mengidentifikasi, mengetahui informasi genetik, dan kekerabatan suatu spesies tumbuhan langka dikembangkan melalui pendekatan bioinformatika (*in silico*) (Sharma & Sarkar, 2013). Bioinformatika merupakan ilmu yang menerapkan teknik

komputasi untuk mengolah data biologi menggunakan program atau perangkat lunak (*software*). Kegiatan penelitian melalui pendekatan *in silico* ini dapat menghasilkan arahan yang lebih cepat dan berpotensi hemat biaya bila dibandingkan dengan pendekatan lainnya (Syahputra, 2015).

Rendahnya tingkat spesies tumbuhan langka yang teridentifikasi dan kurangnya *data base* koleksi spesies tumbuhan langka terancam punah di Indonesia, sehingga diperlukan solusi yang cepat dan efektif untuk memecahkan masalah tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan DNA *Barcode* dengan merancang primer tumbuhan langka di Indonesia berdasarkan penanda *rbcL* melalui pendekatan *in silico* dan diharapkan menjadi salah satu alternatif atau upaya dalam konservasi keanekaragaman tumbuhan, khususnya jenis tumbuhan langka yang terancam punah di Indonesia.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, maka rumusan masalah pada penelitian ini adalah: “Bagaimana pengembangan DNA *barcode* dalam mengidentifikasi dan mendeteksi tumbuhan langka atau tidak melalui perancangan primer diagnostik secara *in silico* menggunakan penanda *rbcL*?”.

1.3 Pertanyaan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas, terdapat pertanyaan mengenai penelitian sebagai berikut:

- 1) Bagaimana pasangan diagnostik primer tumbuhan langka berdasarkan penanda *rbcL*?
- 2) Bagaimana uji coba pasangan primer tumbuhan langka berdasarkan penanda *rbcL* dengan *in silico* PCR?
- 3) Bagaimana uji efektivitas pasangan primer tumbuhan langka berdasarkan penanda *rbcL* dengan *in silico* PCR?

1.4 Batasan Masalah

Beberapa aspek yang membatasi dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- 1) Penelitian ini dilakukan melalui pendekatan *in silico*.
- 2) Sampel yang digunakan terdiri dari 50 sekuen tumbuhan langka di Indonesia.

- 3) Data sekunder berupa sekuen DNA spesies tumbuhan langka berdasarkan penanda *rbcL* diperoleh dari *National Center for Biotechnology Information* (NCBI).
- 4) 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 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

- 1) Memperoleh pasangan primer deteksi tumbuhan langka atau tidak secara *in silico* berdasarkan penanda *rbcL*.
- 2) Memperoleh hasil uji coba pasangan primer tumbuhan langka berdasarkan penanda *rbcL* dalam mengamplifikasi sampel dengan *in silico* PCR.
- 3) Memperoleh hasil uji efektivitas primer tumbuhan langka berdasarkan penanda *rbcL* dalam membedakan tumbuhan langka dan tidak langka di luar sampel penelitian.

1.6 Manfaat Penelitian

Manfaat yang diperoleh dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

- 1) Membantu proses identifikasi tumbuhan langka secara cepat melalui pengembangan diagnostik primer menggunakan penanda *rbcL*.
- 2) Sebagai sumber informasi mengenai primer dari urutan atau susunan sekuen DNA *Barcode* yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi kelompok tumbuhan langka secara cepat.
- 3) Sebagai sumber informasi pengembangan primer yang dapat digunakan untuk penelitian selanjutnya.
- 4) Sebagai sumber untuk penelitian selanjutnya melalui pendekatan *in silico*.

1.7 Struktur Organisasi Skripsi

Struktur organisasi penulisan skripsi ini terdiri dari lima bab, yaitu pendahuluan, kajian pustaka, metode penelitian, temuan dan pembahasan, serta simpulan, implikasi, dan rekomendasi. Bab I berisi latar belakang, rumusan masalah, pertanyaan penelitian, tujuan penelitian, batasan masalah, dan manfaat penelitian. Latar belakang penelitian ini adalah meningkatnya tumbuhan langka di Indonesia yang terancam punah akibat beberapa faktor dan sedikitnya *data base*

tumbuhan langka yang teridentifikasi, sehingga perlu dilakukan upaya untuk mengatasi masalah tersebut dengan mengembangkan diagnostik primer untuk deteksi kelangkaan tumbuhan berdasarkan penanda *rbcL* secara *in silico*. Pengembangan DNA *barcode* dan penggunaan penanda *rbcL* ini menjadi salah satu alternatif identifikasi tumbuhan dengan cepat dan efektif sehingga dapat berkontribusi dalam konservasi tumbuhan langka di Indonesia.

Bab II berisi kajian pustaka mengenai teori-teori yang berkaitan dengan penelitian ini. Teori yang disajikan didapat dari literatur seperti artikel penelitian dengan bahasan yang sama. Kajian pustaka pada skripsi ini menjelaskan mengenai biodiversitas Indonesia, tingkatan keanekaragaman hayati, tumbuhan langka dan status kelangkaan, hubungan *genome instability* dengan kelangkaan, pembahasan mengenai studi *in silico*, bioinformatika, DNA *barcode* dan analisisnya, *deoxyribonucleic acid* (DNA), genom kloroplas, penanda *rbcL*, amplifikasi DNA, teknik *polymerase chain reaction* (PCR), *in silico* PCR, serta primer PCR. Teori tersebut dapat dikaitkan dengan hasil penelitian yang telah dilakukan.

Bab III berisi metode penelitian memuat jenis penelitian, waktu dan tempat, alat dan bahan, prosedur penelitian, serta alur penelitian yang dilakukan. Pada prosedur penelitian dijelaskan proses pengambilan data sekunder tumbuhan langka berdasarkan penanda *rbcL*, pensejajaran sekuen, membuat konsensus, desain primer, uji coba *in silico* PCR, dan analisis data yang diperoleh.

Bab IV berisi temuan dan pembahasan memuat pemaparan hasil penelitian yang telah dilakukan beserta pembahasannya. Terdapat tiga temuan yang dibahas, yaitu kandidat primer tumbuhan langka berdasarkan penanda *rbcL* hasil desain primer, uji coba kandidat primer dengan *in silico* PCR pada sampel tumbuhan langka dan uji efektivitas primer tumbuhan langka dengan *in silico* PCR. Sedangkan untuk pembahasan terdapat tiga bahasan, yaitu pasangan primer tumbuhan langka, skrining hasil uji coba *in silico* PCR, dan efektivitas primer tumbuhan langka. Temuan penelitian dan pembahasan tersebut dijelaskan lalu dikaitkan dengan temuan atau teori dari literatur yang serupa berdasarkan penelitian sebelumnya.

Bab V berisi simpulan, implikasi, dan rekomendasi. Bab ini memaparkan simpulan hasil temuan dan pembahasan penelitian yang didapat, serta implikasi dan rekomendasi bagi pihak yang ingin melakukan penelitian serupa lebih lanjut.