

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Negara Indonesia dikenal dengan sebutan negara kepulauan terbesar di dunia dengan jumlah pulau yang tersebar kurang lebih terdapat 17.000 pulau, sebanyak 13.466 pulau diantaranya sudah teridentifikasi, dan 11.000 pulau telah berpenghuni (Abidin *et al.*, 2020). Selain itu, Indonesia juga dikenal sebagai negara mega biodiversitas dunia. Negara dengan sebutan mega biodiversitas dunia ini merupakan predikat yang diberikan kepada negara yang mempunyai keragaman spesies yang cukup tinggi. Alasan Indonesia disebut sebagai negara mega biodiversitas karena banyaknya spesies flora dan fauna yang tumbuh dan tersebar luas di seluruh wilayah Indonesia (Primiani & Pujiati, 2016). Keberagaman flora dan fauna di Indonesia diakibatkan karena letak geografisnya yang berada di sekitar garis khatulistiwa dan sebagian besar tersebar di kepulauan Indonesia. Indonesia juga terletak di antara dua benua, yaitu benua Australia dan benua Asia. Maka dari itu, tumbuhan dan hewan yang tumbuh di Indonesia mempunyai ciri khas dan karakteristik tertentu.

Keanekaragaman hayati di Indonesia sangat kaya dan berlimpah, baik pada jenis fauna ataupun flora yang tersebar luas. Terdapat 40.000 jenis tumbuhan yang tumbuh di Indonesia (Sulistiani *et al.*, 2020). Oleh sebab itu, karena Indonesia merupakan negara mega biodiversitas dunia maka perlu dilakukannya identifikasi atau pengelompokkan terhadap keberagaman jenis tumbuhan yang terdapat di Indonesia untuk mencukupi kebutuhan penelitian dan sebagai tujuan praktis di masa depan serta untuk menyeimbangi laju hilangnya keanekaragaman hayati flora dan fauna yang tersedia (Kolondam *et al.*, 2012).

Akhir abad ke-20, penelitian di bidang biodiversitas dan sistematika tumbuhan terus bertambah didukung dengan adanya perkembangan ilmu di bidang biologi molekuler. Salah satu ilmunya adalah untuk mengidentifikasi jenis tumbuhan secara molekuler (*barcoding*) (Nurkamila & Pharmawati, 2014). Menurut Bagali (2010) fragmen sekuen DNA yang berhubungan dengan bagian genom pembawa gen suatu karakter tertentu disebut penanda

molekuler. Keuntungan dari penggunaan penanda molekuler yaitu hasil yang didapat lebih konsisten dan semua jenis jaringan dapat dideteksi dengan berbagai tahap perkembangan dan tidak dipengaruhi oleh kondisi lingkungan (Mondini *et al.*, 2009).

Penggunaan DNA dapat menjadi pilihan dan telah diaplikasikan pada berbagai jenis tumbuhan. Semakin pesatnya ilmu pengetahuan dan perkembangan teknologi saat ini, maka terdapat teknik yang cepat dan akurat untuk identifikasi suatu spesies yang disebut dengan teknik DNA *barcoding* yang dapat dijadikan sebagai penanda kode batang DNA (Valentini *et al.*, 2009). Menurut Sutrisno (2016) teknik DNA *barcoding* dapat dijadikan sebagai penanda yang dapat digunakan untuk proses identifikasi makhluk hidup dengan mudah dan cepat menggunakan segmen DNA tertentu yang telah teruji kemampuannya untuk mengidentifikasi tumbuhan hingga tingkat spesies. Keunggulan teknik DNA *barcoding* adalah dapat dipergunakan untuk karakterisasi dan identifikasi berbagai jenis spesies yang tidak dapat dibedakan secara morfologi, membutuhkan jumlah sampel yang sedikit, dan dapat diambil dari semua organ hewan maupun tumbuhan (Rahayu & Jannah, 2019).

Teknik DNA *barcoding* mampu menjembatani keadaan saat ini di mana ahli taksonomi yang semakin berkurang dan rusak atau hilangnya habitat asli spesies yang sangat tinggi yang dapat menyebabkan banyaknya spesies yang belum diketahui jenisnya akan hilang atau punah (Sutrisno, 2016). Menurut Kress (2017) untuk membedakan spesies dan melestarikan spesies yang terancam punah dapat dilakukan dengan menggunakan teknik DNA *barcode*. Pada penelitian di bidang keanekaragaman hayati dan taksonomi, teknik DNA *barcoding* ini memberikan peran yang cukup kuat. Namun hingga saat ini belum banyak DNA *barcode* yang diketahui dan efektif untuk mengidentifikasi semua jenis spesies tumbuhan karena data dan informasi DNA *barcode* masih belum tersedia cukup banyak pada *database* GenBank *National Center for Biotechnology Information* (NCBI).

Perilaku reproduksi atau berkembang biak dari individu di dalam suatu populasi atau komunitas sering kali mempengaruhi keragaman genetik dalam suatu spesies (Basith, 2015). Untuk membantu upaya pelestarian,

pemeliharaan, serta konservasi keberagaman berbagai jenis tumbuhan memerlukan informasi yang lengkap termasuk informasi yang berkaitan dengan keragaman genetik yang belum banyak dilakukan dan tersebar luas. Primer dibutuhkan saat hendak melakukan uji keragaman genetik yang mampu menemukan keberadaan alel dari suatu genotipe seperti primer pada genom kloroplas. Genom kloroplas merupakan metode pendekatan menggunakan penanda molekuler yang dilakukan untuk mengklasifikasi atau identifikasi keragaman genetik atau filogenetik antar spesies. Penanda umum yang direkomendasikan untuk analisis pada tumbuhan yaitu penanda genom kloroplas *rbcL* dan *mat-K*. Namun karena gen *mat-K* dapat membedakan sampai ke tingkat spesies, maka gen *mat-K* lebih umum digunakan daripada gen *rbcL* dalam berbagai penelitian. Jika gen *rbcL* dibandingkan dengan gen *matK*, gen *mat-K* jauh memiliki urutan sekuens yang lebih bervariasi dan kecepatan evolusi yang tinggi (Barthet, 2006). Selain itu, gen *mat-K* memiliki tingkat akurasi tertinggi, yakni sebanyak 97,42%. Tingkat akurasi penanda *mat-K* didasari atas jumlah kesesuaian sekuen dengan sekuen pada basis data di GenBank (Xu *et al.*, 2015), sehingga gen *mat-K* diperkirakan lebih baik dan lebih akurat untuk mendeteksi dan membedakan suatu spesies dibandingkan dengan penanda lainnya (Kolondam *et al.*, 2012).

Bioinformatika merupakan salah satu disiplin ilmu secara *in silico* dengan menggunakan perangkat lunak atau dengan bantuan komputer untuk mengolah data biologi molekuler. Studi *docking*, *bioinformatics*, dan *cheminformatic* merupakan contoh dari pendekatan *in silico*. Hasil akhir atau *output* yang dihasilkan dari pendekatan *in silico* ini dapat dipastikan dengan pendekatan secara *in vivo* atau *in vitro* pada laboratorium. Menurut (Dona *et al.*, 2019) penelitian dengan menggunakan pendekatan *in silico* dapat mempersingkat waktu pengerjaan karena menggunakan bantuan perangkat lunak pada komputer dan memerlukan biaya yang cukup terjangkau jika dibandingkan dengan pendekatan pada penelitian yang lain.

DNA *barcode* merupakan salah satu instrumen yang cukup penting dalam penelitian multidisipliner yang memerlukan adanya ketersediaan *database* untuk proses identifikasi spesies. Cukup banyak spesies tumbuhan

yang belum tersedia atau tidak cukup lengkap untuk sekuen DNA yang berasal dari gen mat-K menurut pencarian di NCBI (*National Center for Biotechnology Information*) yang merupakan sebuah sistem yang terhubung ke dalam *database* sekuen dari beberapa negara. Selain itu, karena sedikitnya jumlah persentase jenis tumbuhan yang telah dikenali, maka peneliti dapat menggunakan metode identifikasi spesies secara cepat dan tepat khususnya untuk mengidentifikasi spesies yang belum teridentifikasi status kelangkaannya. Maka, penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan pasangan sekuen primer untuk mendeteksi kelangkaan suatu jenis tumbuhan dengan menggunakan penanda mat-K secara *in silico* untuk dijadikan sebagai DNA *barcode* tumbuhan langka.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dikemukakan, maka rumusan masalah penelitian ini adalah “Bagaimana pengembangan dan penggunaan DNA *barcode* untuk mendeteksi langka atau tidaknya tumbuhan di Indonesia melalui perancangan primer diagnostik secara *in silico* menggunakan penanda mat-K?”.

1.3 Pertanyaan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah diatas, maka pertanyaan penelitian yang diajukan adalah sebagai berikut:

- 1) Bagaimana urutan pasangan primer yang digunakan sebagai penanda dalam pengembangan kode batang DNA untuk tumbuhan langka di Indonesia berdasarkan penanda mat-K?
- 2) Bagaimana hasil skrining *in silico* PCR kandidat primer tumbuhan langka di Indonesia?
- 3) Bagaimana hasil uji efektivitas primer tumbuhan langka di Indonesia?

1.4 Batasan Masalah

Agar masalah pada penelitian ini terfokus pada hasil yang diinginkan, maka batasan masalah dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

- 1) Menggunakan data sekunder yang tersedia dari GenBank NCBI berupa sekuen DNA.
- 2) Penanda DNA yang digunakan untuk identifikasi tumbuhan langka pada

penelitian ini menggunakan penanda mat-K dari genom kloroplas.

- 3) Status kelangkaan diperoleh dari *International Union for Conservation of Nature* (IUCN) dengan kategori *Critically Endangered* (CR; Kritis), *Endangered* (EN; Genting), dan *Vulnerable* (VU; Rentan).

1.5 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah mendapatkan primer untuk mendeteksi tumbuhan langka atau tidak menggunakan penanda mat-K secara *in silico*.

1.6 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

- 1) Sebagai sumber informasi mengenai DNA *barcoding* khususnya pada tumbuhan langka.
- 2) Sebagai sumber pengetahuan untuk mendukung penelitian selanjutnya dengan menggunakan pendekatan secara *in silico*.
- 3) Membantu proses identifikasi tumbuhan langka secara cepat dan tepat melalui pengembangan primer diagnostik menggunakan penanda mat-K.

1.7 Struktur Organisasi

Isi utama pada penyusunan skripsi ini menurut Pedoman Penulisan Karya Ilmiah UPI adalah terdiri dari lima bab. Dimulai dari pendahuluan, tinjauan pustaka, metode penelitian, temuan dan pembahasan, serta pada bab terakhir terdapat simpulan, implikasi, dan rekomendasi. Struktur organisasi pada penulisan skripsi yang akan disusun adalah sebagai berikut:

1) BAB I Pendahuluan

Pada bagian pendahuluan ini memuat berbagai aspek yang mendasari penelitian, yakni tersusun atas latar belakang, rumusan masalah, pertanyaan penelitian, batasan masalah, tujuan penelitian, manfaat penelitian, dan struktur organisasi penulisan skripsi. Latar belakang penelitian ini membahas tentang negara Indonesia yang dikenal sebagai negara mega biodiversitas dunia yang ditandai dengan banyaknya keanekaragaman flora maupun fauna yang hidupnya tersebar luas dikawasan Indonesia dan belum banyak tumbuhan yang telah teridentifikasi status kelangkaannya. Sehingga dibutuhkan metode yang cepat dan efisien untuk identifikasi tumbuhan dengan menggunakan teknik

DNA *barcode* dengan penggunaan kode batang DNA yang berasal dari genom kloroplas tumbuhan salah satunya adalah gen mat-K.

2) BAB II Tinjauan Pustaka

Pada bagian ini berisi tentang hasil tinjauan pustaka yang memuat sumber-sumber telaah penelitian terdahulu yang relevan mengenai setiap variabel yang terlibat dengan penelitian ini. Tinjauan Pustaka pada penelitian ini terdiri dari Keanekaragaman Hayati, Tumbuhan Langka dan Kelangkaan, Stabilitas Genom, DNA *Barcode*, Penanda mat-K, Bioinformatika, dan Studi *In Silico*.

3) BAB III Metode penelitian

Pada bagian ini berisi tentang pemaparan materi, prosedur penelitian, serta analisis data. Metode penelitian ini memuat jenis penelitian, waktu dan lokasi penelitian, alat dan bahan, prosedur penelitian, serta alur penelitian. Tahapan penelitian yang dilakukan diawali dengan pengumpulan 50 sampel tumbuhan langka beserta sekuen DNA daerah mat-K, kemudian dilakukan analisis secara *in silico* untuk mendapatkan sekuen konsensus DNA dan desain primer tumbuhan langka, serta uji efektivitas kandidat primer yang telah diperoleh.

4) BAB IV Temuan dan Pembahasan

Pada bagian ini memuat interpretasi hasil penelitian yang telah dilakukan serta hasil penelitian tersebut dipaparkan, dikembangkan, dan dikaitkan dengan temuan dari sumber lain yang relevan. Temuan yang diperoleh dari hasil penelitian ini adalah kandidat primer tumbuhan langka serta *in silico* PCR dan uji efektivitas. Dari temuan tersebut, selanjutnya disusun pembahasan mengenai interpretasi hasil yang telah diperoleh.

5) BAB V Simpulan, Implikasi, dan Rekomendasi

Pada bagian ini menjelaskan tentang simpulan dan implikasi dari penelitian yang dilakukan serta rekomendasi untuk penelitian selanjutnya. Diharapkan, dengan adanya simpulan, implikasi, dan rekomendasi inilah dapat menjadi referensi tambahan untuk penelitian selanjutnya.