

**ANALISIS MOLEKULER BERBASIS PENANDA *trnL-F*
UNTUK DETEKSI TUMBUHAN LANGKA SECARA *IN SILICO***

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi sebagian syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains
Program Studi Biologi



Disusun oleh :
Santana Kocha
2106805

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS PENDIDIKAN MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS PENDIDIKAN INDONESIA
BANDUNG
2025**

**ANALISIS MOLEKULER BERBASIS PENANDA trnL-F
UNTUK DETEKSI TUMBUHAN LANGKA SECARA *IN SILICO***

Oleh
Santana Kocha

Skripsi yang diajukan untuk memenuhi sebagian syarat memperoleh gelar
Sarjana Sains pada Program Studi Biologi
Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

©Santana Kocha 2025
Universitas Pendidikan Indonesia
2025

Hak cipta dilindungi undang-undang.
Skripsi ini tidak boleh diperbanyak seluruhnya atau sebagian,
dengan dicetak ulang, difotokopi, atau cara lainnya tanpa izin dari penulis.

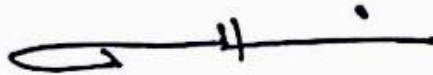
LEMBAR PENGESAHAN

SANTANA KOCHA

**ANALISIS MOLEKULER BERBASIS PENANDA trnL-F
UNTUK DETEKSI TUMBUHAN LANGKA SECARA *IN SILICO***

Disetujui dan disahkan oleh:

Pembimbing I,



Prof. Topik Hidayat, M.Si., Ph.D.

NIP. 197004101997021001

Pembimbing II,



Dr. Hernawati, S.Pt., M.Si.

NIP. 197003311997022001

Mengetahui,

Ketua Program Studi Biologi,



Dr. Wahyu Surakusumah, S.Si., M.T.

NIP. 197212301999031001

LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi dengan judul “Analisis Molekuler Berbasis Penanda trnL-F untuk Deteksi Tumbuhan Langka secara *in silico*” ini beserta seluruh isinya adalah benar-benar karya saya sendiri. Saya tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan dengan cara-cara yang tidak sesuai dengan etika ilmu yang berlaku dalam masyarakat keilmuan. Atas pernyataan ini, saya siap menanggung risiko/sanksi apabila di kemudian hari ditemukan adanya pelanggaran etika keilmuan atau ada dari pihak lain terhadap keaslian karya saya ini.

Bandung, Juli 2025

Yang membuat pernyataan

Santana Kocha

NIM 2106805

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis haturkan kepada Allah SWT atas limpahan rahmat dan karunia-Nya, yang telah memungkinkan penulis untuk menyelesaikan skripsi berjudul “**Analisis Molekuler Berbasis Penanda trnL-F untuk Deteksi Tumbuhan Langka secara in silico**”. Karya tulis ini disusun sebagai salah satu syarat untuk mengikuti sidang akhir pada Program Studi Biologi, Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pendidikan Indonesia.

Dalam proses pelaksanaan penelitian dan penulisan skripsi ini, penulis menghadapi berbagai hambatan dan tantangan. Namun berkat doa, dukungan, serta bimbingan dari berbagai pihak, penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.

Penulis menyadari bahwa masih terdapat kekurangan dalam penulisan ini. Oleh karena itu, masukan dan saran yang bersifat membangun sangat penulis harapkan. Semoga karya ini dapat memberikan manfaat, baik bagi penulis sendiri maupun bagi para pembaca.

Bandung, Juli 2025

Santana Kocha

UCAPAN TERIMA KASIH

Dalam proses penyusunan skripsi ini, penulis menyadari bahwa keberhasilan yang dicapai bukan semata hasil dari upaya pribadi, melainkan juga berkat dukungan serta bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih yang tulus kepada semua pihak yang telah memberikan kontribusi dalam penyelesaian skripsi ini. Dengan penuh hormat dan ketulusan, penulis menyampaikan apresiasi yang mendalam kepada:

1. Bapak Prof. Topik Hidayat, M.Si., Ph.D. selaku dosen pembimbing I yang telah banyak meluangkan waktu, pikiran, dan tenaga untuk membimbing penulis selama pelaksanaan tugas akhir dan penulisan skripsi ini.
2. Ibu Dr. Hernawati, S.Pt., M.Si. selaku dosen pembimbing II yang telah banyak memberi arahan serta dukungan kepada penulis selama pelaksanaan tugas akhir dan penulisan skripsi ini.
3. Ketua Program Studi Biologi FPMIPA Universitas Pendidikan Indonesia, yaitu Bapak Dr. Wahyu Surakusumah, S.Si., M.T. yang selalu memberikan arahan terkait program magang hingga terkait ke penulisan laporan.
4. Ibu Hj. Tina Safaria, M.Si. selaku pembimbing akademik atas bantuannya dan selalu memberi semangat, motivasi, dan informasi tentang perkuliahan kepada penulis.
5. Seluruh dosen dan staf Prodi Biologi FPMIPA UPI yang telah memberikan pengajaran ilmu pengetahuan dan pengalaman yang diberikan selama perkuliahan.
6. Bunda yaitu Ibu Yuli Yenneni yang selalu memberikan doa dan dukungan, baik dukungan moral maupun materi sehingga dapat memotivasi penulis. Segala pengorbanan dan kasih sayang menjadi semangat utama dalam menyelesaikan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat menjadi salah satu bukti keberhasilan orang tua penulis selama mendidik penulis.
7. Sanak keluarga yang memberikan doa dan dukungan selama penyusunan skripsi ini.
8. Rekan satu tim penelitian yaitu Aisyah Fikria, Liana Agustine, dan Naila Aulia yang telah bersama-sama berjuang dan saling memberi dukungan selama pelaksanaan tugas akhir hingga penyusunan skripsi ini.
9. Teman-teman penulis, yaitu Wulan Puspita Sari, Tsabita Khisha, Hilda Nur Azizah, Lilya Latanza, Laela Nisa Putri, Riana Oktavianty, Syifa Aulia,

Vinno Bayu, Agung Nugroho, Annida Putri, Eksa Adhwa, Yualinda Durotul, Wulan Nafa, Salma Setia, Siti Sofiah, Emilia Mia Lestari, dan teman-teman PSDO HMBF yang telah memberikan dukungan dan semangat selama perkuliahan hingga menyelesaikan skripsi ini.

10. Leo (kucing kesayangan) yang telah setia menemani, kehadirannya yang tenang menjadi sumber hiburan, pengingat waktu istirahat, dan teman bercerita yang tidak pernah protes. Serta menghangatkan pangkuan dan hati selama proses penyusunan skripsi ini.
11. Seluruh teman-teman Biologi C 2021 yang telah kebersamai dan saling memberi bantuan dan dukungan selama empat tahun masa perkuliahan.

ABSTRAK

Analisis Molekuler Berbasis Penanda *trnL-F* Untuk Identifikasi

Tumbuhan Langka Secara *In Silico*

Penelitian ini bertujuan mengembangkan primer diagnostik berbasis penanda *trnL-F* secara *in silico* untuk mendeteksi tumbuhan langka. Biodiversitas mencakup variasi kehidupan di bumi, dari gen, spesies, hingga ekosistem. Semakin tinggi keanekaragaman hayati, semakin stabil dan produktif suatu ekosistem. Selain itu, variasi genetik membantu organisme beradaptasi terhadap perubahan lingkungan dan iklim. Menurut IUCN, lebih dari 40% spesies tumbuhan di dunia terancam punah akibat perubahan iklim, ketidakstabilan genom, deforestasi, dan aktivitas manusia. Gangguan ini dapat merusak fungsi gen penting dan mengurangi kemampuan adaptasi, membuat tumbuhan langka semakin rentan terhadap kepunahan. Maka dari itu upaya konservasi sangat dibutuhkan, namun identifikasi dan karakterisasi tumbuhan langka masih menjadi tantangan karena metode tradisional karena sering kurang akurat. Kelemahan penanda morfologi mendorong penggunaan penanda molekuler DNA. DNA barcode berbasis *trnL-F* memungkinkan identifikasi *in silico* secara cepat, akurat, dan non-destruktif. Teknik *in silico* PCR juga memungkinkan perancangan eksperimen secara efisien, murah, dan tanpa laboratorium. Sebanyak 30 sekuens DNA tumbuhan langka dari data IUCN dianalisis menggunakan perangkat lunak ClustalX, BioEdit, dan FastPCR. Dari analisis ini dihasilkan 12 kandidat primer (6 *forward* dan 6 *reverse*). Uji *in silico* PCR terhadap 12 spesies langka menunjukkan satu pasangan primer terbaik, yaitu *forward* (1:F_255–277) dan *reverse* (1:R_355–375). Uji efektivitas terhadap 12 spesies non-langka menunjukkan spesifisitas 100% dengan hasil PCR negatif. Berdasarkan hal tersebut dapat diartikan bahwa temuan ini menunjukkan pasangan primer tersebut sangat potensial untuk deteksi dan konservasi tumbuhan langka secara efisien dan akurat.

Kata kunci: DNA Barkod, Identifikasi Spesies, *In Silico*, Penanda *trnL-F*, Tumbuhan Langka.

ABSTRACT

Molecular Analysis Based on trnL-F Marker for In Silico Identification of Rare Plants

This study aims to develop diagnostic primers based on trnL-F markers in silico to detect rare plants in an effort to conserve rare plants. Biodiversity encompasses the variety of life on earth, from genes, to species, to ecosystems. The higher the biodiversity, the more stable and productive an ecosystem is. In addition, genetic variation helps organisms adapt to environmental and climate changes. According to the IUCN, more than 40% of the world's plant species are threatened by climate change, genome instability, deforestation and human activities. These disruptions can impair the function of important genes and reduce adaptability, making rare plants even more vulnerable to extinction. Conservation efforts are therefore urgently needed, but identification and characterization of rare plants remains a challenge due to traditional methods that often lack accuracy. The weakness of morphological markers encourages the use of DNA molecular markers. The trnL F-based DNA barcode enables fast, accurate and non-destructive in silico identification. The in silico PCR technique also allows the design of experiments efficiently, cheaply, and without a laboratory. The method applied in this research is descriptive research. A total of 30 rare plant DNA sequences from IUCN data were analyzed using ClustalX, BioEdit, and FastPCR software. This analysis resulted in 12 candidate primers (6 forward and 6 reverse). In silico PCR tests on 12 rare species showed one best primer pair, namely forward (1:F_255-277) and reverse (1:R_355-375). The effectiveness test against 12 non-rare species showed 100% specificity with negative PCR results. Based on this, it can be interpreted that these findings indicate that this primer pair has great potential for efficient and accurate detection and conservation of rare plants.

Keywords: DNA Barcoding, Species Identification, *In Silico*, trnL-F Marker, Rare Plants.

DAFTAR ISI

LEMBAR PERNYATAAN	ii
KATA PENGANTAR	iii
UCAPAN TERIMA KASIH.....	iv
ABSTRAK	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Batasan Penelitian	4
1.5 Manfaat Penelitian	5
IDENTIFIKASI TUMBUHAN LANGKA SECARA <i>IN SILICO</i> MENGUNAKAN PENANDA MOLEKULER trnL-F	6
2.1 Biodiversitas.....	6
2.2 Tingkatan Keanekaragaman Hayati	7
2.3 Tumbuhan Langka dan Status Kelangkaan.....	9
2.4 Hubungan <i>Genom Instability</i> dengan Kelangkaan.....	11
2.5 <i>In silico</i> PCR	12
2.6 Kriteria Primer yang Baik dalam Analisis Molekuler	13
2.7 Bioinformatika	14
2.8 DNA <i>Barcode</i> dan Analisisnya.....	15
2.9 Genom Kloroplas	17

2.10 Penanda trnL-F.....	18
METODE PENELITIAN.....	21
3.1 Jenis Penelitian.....	21
3.2 Waktu dan Tempat	21
3.3 Alat dan Bahan.....	21
3.4 Prosedur Penelitian.....	22
3.4.1 Pengambilan Data	22
3.4.2 Sequence <i>Alignment</i>	33
3.4.3 Membuat <i>Consensus</i> Sekuen.....	36
3.4.4 Desain Primer.....	41
3.4.5 Uji Coba <i>In silico</i> PCR.....	43
3.4.6 Alur Penelitian	47
HASIL DAN PEMBAHASAN.....	48
4.1 Hasil DNA <i>Barcode</i>	48
4.2 Hasil Desain Primer	51
4.3 Hasil Uji Coba <i>In silico</i> PCR	57
KESIMPULAN DAN SARAN.....	66
5.1 Simpulan	66
5.2 Implikasi.....	66
5.3 Rekomendasi	66
DAFTAR PUSTAKA	67
LAMPIRAN.....	76

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Diagram tingkatan status kelangkaan menurut IUCN Red List	10
Gambar 2.2 Genom kloroplas.....	18
Gambar 3.1 Laman IUCN	23
Gambar 3.2 Informasi data <i>Amorphophallus titanum</i> pada laman IUCN	23
Gambar 3.3 Laman NCBI.....	29
Gambar 3.4 Tipe sekuen diubah menjadi “ <i>Nucleotide</i> ”, kemudian nama spesies dan penandanya dimasukkan.....	29
Gambar 3.5 Informasi <i>Amorphophallus titanum</i> menggunakan penanda trnL-F.....	30
Gambar 3.6 Contoh data sekuen salah satu tumbuhan langka berdasarkan penanda trnL-F	31
Gambar 3.7 Data pada perangkat lunak NotePad.....	31
Gambar 3.8 Format penamaan.....	32
Gambar 3.9 Contoh beberapa data dalam format FASTA	32
Gambar 3.10 Langkah-langkah melakukan <i>sequence alignment</i> menggunakan perangkat lunak ClustalX.....	33
Gambar 3.11 Perangkat lunak ClustalX	34
Gambar 3.12 Data sekuen DNA diinput pada ClustalX.....	34
Gambar 3.13 Data disimpan dalam format NEXUS	35
Gambar 3.14 Lakukan alignment dengan cara Pilih <i>ALIGNMENT</i> – Do Complete Alignment.....	35
Gambar 3.15 Sekuen DNA setelah dilakukan proses <i>alignment</i>	36
Gambar 3.16 Langkah-langkah pembuatan <i>consensus sequence</i> menggunakan BioEdit.	37
Gambar 3.17 Perangkat lunak BioEdit.....	37
Gambar 3.18 Data yang telah dikumpulkan di input, klik Simbol folder pada sebelah kiri atas.	38

Gambar 3.19 <i>Consensus</i> sekuen dibuat dengan cara klik <i>Alignment</i> , kemudian pilih <i>Create Consensus Sequence</i>	38
Gambar 3.20 Hasil <i>Consensus</i> Sekuen	39
Gambar 3.21 Data disimpan dalam FASTA format dengan cara <i>Block consensus – Edit – Copy Sequences to clipboard</i> (FASTA format).	39
Gambar 3.22 Hasil FASTA disimpan pada perangkat lunak NotePad.	40
Gambar 3.23 IUPAC DNA <i>Codes</i>	40
Gambar 3.24 Hasil <i>consensus</i>	41
Gambar 3.25 Langkah-langkah mendesain primer menggunakan perangkat lunak FastPCR.	41
Gambar 3.26 Perangkat lunak FastPCR	42
Gambar 3.27 <i>Consensus</i> sekuen diinput pada FastPCR.....	42
Gambar 3.28 Hasil Desain Primer	43
Gambar 3.29 Langkah-langkah uji coba primer dengan <i>in Silico</i> PCR menggunakan perangkat lunak FastPCR.	44
Gambar 3.30 FASTA tumbuhan diinput pada FastPCR	44
Gambar 3.31 Pasangan kandidat primer diinput pada FastPCR.....	45
Gambar 3.32 Hasil Positif <i>In silico</i> PCR.....	46
Gambar 3.33 Hasil Negatif <i>In silico</i> PCR	46
Gambar 3.34 Alur penelitian	47
Gambar 4.1 Hasil <i>Consensus</i> Sekuen	50
Gambar 4.2 Hasil <i>Consensus</i> Sekuen	51
Gambar 4.3 Hasil Positif Pasangan Primer	59
Gambar 4.4 Hasil Negatif Pasangan Primer.....	59
Gambar 4.5 Hasil Positif <i>In silico</i> PCR.....	64
Gambar 4.6 Hasil Negatif <i>In silico</i> PCR	64

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1 Alat yang digunakan dalam penelitian	21
Tabel 3.2 Bahan yang digunakan dalam penelitian.....	22
Tabel 3.3 Data sekunder sekuen DNA tumbuhan langka penanda trnL-F	24
Tabel 3.4 Data sekuen DNA tumbuhan langka berdasarkan penanda trnL-F untuk uji <i>in silico</i>	26
Tabel 3.5 Data sekuen DNA tumbuhan tidak langka berdasarkan penanda trnL-F untuk uji efektivitas.....	28
Tabel 4.1 Hasil Kandidat Primer dengan FastPCR	52
Tabel 4.2 Hasil <i>In silico</i> PCR.....	60
Tabel 4.3 Hasil Pasangan Primer.....	61
Tabel 4.4 Uji Efektivitas Tumbuhan Langka	62
Tabel 4.5 Uji Efektivitas Tumbuhan Non-Langka	63

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil pensejajaran sekuen DNA pada program ClustalX.....	76
Lampiran 2. Hasil pembentukan <i>consensus</i> pada program BioEdit	76
Lampiran 3. Hasil Desain Primer Pada FastPCR.....	77
Lampiran 4. Hasil Pengujian Satu per Satu Kandidat Primer Positif Tumbuhan Langka Penanda trnL-F.....	78
Lampiran 5. Hasil Pengujian Pasangan Kandidat Primer Positif Tumbuhan Langka Penanda trnL-F.....	79

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, F.M., Shahzadi, I., Waseem, S., Mirza, B., Ahmed, I., & Waheed, M.T. (2019). Chloroplast Genome of *Hibiscus rosa-sinensis* (Malvaceae): Comparative Analyses and Identification of Mutational Hotspots. *Genomics*, 1(1), 1-10.
- Abidin, Z., Purnomo, & Pradhana, C. (2020). Keanekaragaman Hayati sebagai Komoditas Berbasis Autentitas Kawasan. Jombang: Fakultas Pertanian Universitas KH.A Wahab Hasbullah
- Adjie, B., Takamiya, M., Ohta, M., Oshawa, T. A., & Watano, Y. (2008). Molecular Phylogeny of the Lady Fern Genus *Athyrium* in Japan Based on Chloroplast *rbcL* and *trn-L-trnF* Sequences.
- Aguilera, A., & García-Muse, T. (2013). Causes of genome instability. *Annual Review of Genetics*, 47, 1–32. <https://doi.org/10.1146/annurev-genet-111212-133232>
- Aguoru, C. U., Okoli, B. E., & Olasan, J. O. (2019). Comparative phylogenetics of *Sesamum* species using complete chloroplast genome sequences and insights from *trnL-F* intron. *International Journal of Plant Research*, 9(1), 1-8.
- Antonelli, A., Zizka, A., Lillo, E. P., Delgado, A. J., & Dodson, P. (2020). Biodiversity crisis in the 21st century: A global perspective. *Trends in Ecology & Evolution*, 35(8), 1-13. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2020.03.001>
- Anwar, M. (2024). DNA barcoding jenis *Agathis* area PT. Vale Indonesia menggunakan *trnL-F*. Skripsi, Universitas Hasanuddin. Diakses dari https://repository.unhas.ac.id/37078/2/M021201050_skripsi_04-07-2024%201-2.pdf
- Anwara Muhammad Foundation. (2023). "Krisis Keanekaragaman Hayati di Indonesia". Diakses dari [amf.or.id](<https://amf.or.id/krisis-keanekaragaman-hayati-di-indonesia/>).
- Barcaccia, G., Nicole, S., & Lucchin, M. (2007). Assessing Distinctiveness of Crop Plat Species and Varieties Through DNA Barcoding. Proceeding of the 51st Italian Society of Agricultural Genetics Annuals Cronggress Riva del Garda, Italy 23–26 September 2007.
- Bustin, S. A., & Nolan, T. (2004). Pitfalls of quantitative real-time reverse-transcription polymerase chain reaction. *Journal of Biomolecular Techniques*, 15(3), 155–166.
- Bustin, S., & Huggett, J. (2023). Ensuring successful qPCR experiments: Best practices for primer design, validation and optimization. *Molecular Aspects of Medicine*, 89, 101071.
- Cahyaningsih, R., Brehm, J. M., & Maxted, N. (2021). Conservation priority of crop wild relatives in Indonesia. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 68(6), 2491-2507.
- Chen, C. W., Huang, Y. M., Kuo, L. Y., Nguyen, Q. D., Luu, H. T., Callado, J. R., Farrar, D. R., & Chiou, W. L. (2013). *trnL-F-F* is a powerful marker for DNA identification of field vittarioid gametophytes (*Pteridaceae*). *Journal Annals of Botany*, 111(4), 663–673.
- Chen, Y., Liu, K., Zhang, J., & Wong, T. (2022). Comprehensive in silico evaluation for PCR primer design: Challenges and advancements in the era of big genomic data. *Molecular Biology Reports*, 49(3), 2415-2427.

- Cheng, T., Xu, C., Lei, L., Li, C., Zhang, Y., & Zhou, S. (2019). Barcoding the kingdom Plantae: New perspectives on molecular evolution and taxonomic classification. *Gene*, 702, 50-59.
- Cheng, X., Zhang, W., & Li, M. (2018). Advanced Molecular Design Strategies in PCR Primer Selection. *Molecular Biology Reports*, 45(3), 345-359.
- Cho, Y., Lee, H.J., Park, J., & Lee, J. (2020). Molecular parameters affecting the efficiency of DNA amplification and their applications in primer design. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 528(2), 412-417.
- Consortium Barcode of Life (CBOL). (2009). A DNA Barcode for Land Plants. *PNAS*, 106 (31).
- Des Roches, S., Pendleton, L. H., Shapiro, B., & Palkovacs, E. P. (2021). Conserving intraspecific variation for nature's contributions to people. *Nature Ecology & Evolution*, 5(5), 574-582. <https://doi.org/10.1038/s41559-021-01403-5>
- Dewi, N. K., Musaya, I. W., & Nuryady, D. (2019). Desain primer PCR spesifik secara in silico untuk amplifikasi gen target *Aedes aegypti*. *Kauniah: Jurnal Biologi*, 18(1), 29-40. <https://doi.org/10.15408/kauniah.v18i1.33726>
- Díaz, S., Settele, J., Brondízio, E. S., Ngo, H. T., Guèze, M., Agard, J., Arneth, A., Balvanera, P., Brauman, K. A., Butchart, S. H. M., Chan, K. M. A., Garibaldi, L. A., Ichii, K., Liu, J., Subramanian, S. M., Midgley, G. F., Miloslavich, P., Molnár, Z., Obura, D., ... Zayas, C. N. (2020). Summary for policymakers of the global assessment report on biodiversity and ecosystem services of the Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services. IPBES secretariat. <https://doi.org/10.5281/zenodo.3553579>
- Dieffenbach, C. W., Lowe, T. M. J., & Dveksler, G. S. (1993). General concepts for PCR primer design. *PCR Methods and Applications*, 3(3), S30–S37. <https://doi.org/10.1101/gr.3.3.S30>
- Dong, W., Liu, J., Yu, J., Wang, L., & Zhou, S. (2012). Highly variable chloroplast markers for evaluating plant phylogeny at low taxonomic levels and for DNA barcoding. *Plos One*, 7(4), 1-10.
- Dzikrina, H. (2022). Pengembangan Primer Diagnostik Menggunakan Penanda mat-K Secara In Silico untuk Mendeteksi Kelangkaan Jenis Tumbuhan di Indonesia. Universitas Pendidikan Indonesia. http://repository.upi.edu/77090/1/S_BIO_1800661_Title.pdf
- Dzikrina, H., Hidayat, T., & Sriyati, S. (2023). Pengembangan primer diagnostik menggunakan penanda mat-K secara in silico untuk mendeteksi kelangkaan jenis tumbuhan di Indonesia. *Al-Kauniah: Jurnal Biologi*, 16(2.1), 111-122. <https://doi.org/10.15408/kauniah.v16i2.1.27538>
- Fakih, T. M., Wijaya, S., dan Priani, S. E. (2021). Design of 12S rRNA gene primer from pork mitochondrial dna (sus scrofa) through in silico as primer candidates in molecular analysis of product halalness. *J Sains Farm Klin* 8(3):316–322. DOI: 10.25077/jsfk.8.3.316-322.2021
- Ficetola, G. F., Boyer, F., Valentini, A., Bonin, A., Meyer, A., Dejean, T., & Taberlet, P. (2021). Comparison of PCR-based marker systems for the detection of environmental DNA from fish. *Scientific Reports*, 11(1), 1-10. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-92631-z>
- Flather, C. H., & Hull Sieg, C. (2007). Species rarity: definition, causes, and classification. Raphael, M. G.; Molina, R. (Eds.). *Conservation of Rare or Little-Known Species: Biological, Social, and Economic Considerations*, 40–

66.

https://www.google.com/books?hl=id&lr=&id=CJN7ttfshWEC&oi=fnd&pg=PA40&dq=Species+Rarity:+Definition,+Causes,+and+Classification&ots=3lGE0gkMS&sig=6KQxX6LY_T4GZ4facUIfyGiF4Ss

- Gafur, A., Sari, M., Widodo, B., & Hasanah, L. (2016). "Biodiversitas Fauna Indonesia". *Jurnal Ilmu Kehutanan*, 10(2), 45-55.
- Ganal MW, Altmann T, Roder MS. 2009. SNP identification in crop plant. *Curr Opin Plant Biol*. 12: 211-217.
- Handoyo, D., & Rudiretna, R. (2001). Desain primer untuk amplifikasi secara in silico gen target. Laporan Penelitian Individual, Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga. <http://digilib.uin-suka.ac.id/id/eprint/11908/contents>
- Handoyo, S., & Rudiretna, M. (2001). Polymerase Chain Reaction (PCR) dan aplikasinya dalam bioteknologi [PDF]. Universitas Sriwijaya. http://repository.unsri.ac.id/155338/19/RAMA_46201_08041182025012_0022117205_0026077305_01_front_ref.pdf
- Hansson, B., & Westerberg, L. (2022). On the correlation between heterozygosity and fitness in natural populations. *Molecular Ecology*, 11(12), 2467-2474. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.2002.01644.x>
- Hebert, P. D. N., Braukmann, T. W. A., Prosser, S. W. J., Ratnasingham, S., deWaard, J. R., Ivanova, N. V., Janzen, D. H., Hallwachs, W., Naik, S., Sones, J. E., & Zakharov, E. V. (2020). A Sequel to Sanger: amplicon sequencing that scales. *BMC Genomics*, 21(1), 312. <https://doi.org/10.1186/s12864-020-6723-9>
- Hebert, P.D.N., Cywinska A., Ball S.L., & DeWaard J.R. 2003. Biological identifications through Barcodes. *Proc Roy Soc B Bio*. vol. 270: 313–321.
- Hebert, P.D.N., Ratnasingham, S., & de Waard, J.R. (2016). Barcoding animal life: Cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 283(1824), 20160025.
- Hidayat, S., Zuhud, E. A. M., & Widyatmoko, D. (2019). Vegetation analysis and population structure of plants in Mount Endut, Gunung Halimun Salak National Park, Banten. *Jurnal Biologi Indonesia*, 15(1), 121-132.
- Hidayat, T., & Pancoro, A. (2006). Sistematika dan Filogenetika Molekuler. In *Kursus Singkat Aplikasi Perangkat Lunak PAUP dan MrBayes untuk Penelitian Filogenetika Molekuler* SITH-ITB 2006. http://file.upi.edu/Direktori/FPMIPA/JUR._PEND._BIOLOGI/197004101997021-TOPIK_HIDAYAT/Makalah_Filogenetik_Molekuler.pdf
- Hidayat, T., Kusumawaty, D., Yati, D. D., Muchtar, A. A., & Mariana, D. (2008). Molecular Phylogenetic Analysis of *Phyllanthus niruri* L. (Euphorbiaceae) Using Internal Transcribed Spacer (ITS). *Jurnal Matematika dan Sains*, 13(1), 16–21.
- Hoggard, G.D., Kores, P.J., Molvray, M. & Hoggard, R.K. (2004). The phylogeny of *Gaura* (Onagraceae) based on ITS, ETS, and trnL-F sequence data. *American Journal of Botany*, 91(1), 139-148.
- Hollingsworth, P. M., Li, D. Z., van der Bank, M., & Twyford, A. D. (2021). Telling plant species apart with DNA: from barcodes to genomes. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 371(1702), 20150338. <https://doi.org/10.1098/rstb.2015.0338>

- Holub, J., & Procházka, P. (2019). On-line searching in IUPAC nucleotide sequences. *Proceedings of the Prague Stringology Conference 2019*, 2-21. <https://nms.kcl.ac.uk/informatics/events/LSD&LAW19/slides/Holub.pdf>
- Irnaningtyas. (2016). Biologi untuk SMA/MA Kelas X Kurikulum 2013. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Isbell, F., Gonzalez, A., Loreau, M., Cowles, J., Díaz, S., Hector, A., Mace, G. M., Wardle, D. A., O'Connor, M. I., Duffy, J. E., Turnbull, L. A., Thompson, P. L., & Larigauderie, A. (2020). Biodiversity increases the resistance of ecosystem productivity to climate extremes. *Nature*, 526(7574), 574-577. <https://doi.org/10.1038/nature15374>
- Jiang, F., Wang, X., & Doudna, J. A. (2022). CRISPR-Cas9 Structure and Function in Genome Editing. *Annual Review of Biophysics*, 51, 291-313. <https://doi.org/10.1146/annurev-biophys-102521-100600>
- Jones, B. J., Kan, C. N. E., Luo, C., & Kazlauskas, R. J. (2020). Consensus Finder web tool to predict stabilizing substitutions in proteins. *bioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2020.06.29.178418>
- Kalendar, R., Khassenov, B., Ramankulov, Y., Samuilova, O., & Ivanov, K. I. (2017). FastPCR: An *In silico* tool for fast primer and probe design and advanced sequence analysis. *Genomics*, 109(3-4), 312-319. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2017.05.005>
- Kalendar, R., Lee, D., & Schulman, A. H. (2017). FastPCR software for PCR primer and probe design and repeat search. *Genes*, 8(10), 1-14. <https://doi.org/10.3390/genes8100236>
- Kalendar, R., Lee, D., & Schulman, A. H. (2023). *In silico* PCR tools for a diversity of tasks in PCR primer and amplicon analysis. *Genes*, 14(1), 94. <https://doi.org/10.3390/genes14010094>
- Kalendar, R., Muterko, A., & Boronnikova, S. (2021). Computer program FastPCR for designing PCR primers and probes for DNA assembly methods, molecular cloning, and high-throughput sequencing. *Journal of Molecular Sciences*, 22(9), 4483.
- Kang, Y., Deng, Z., Zang, R., & Long, W. (2017). DNA barcoding analysis and phylogenetic relationships of tree species in tropical cloud forests. *Scientific Reports*, 7(1), 1-9. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-13057-0>
- Kementerian Lingkungan Hidup dan Kehutanan. (2020). Laporan Tahunan. Jakarta: Kementerian Lingkungan Hidup dan Kehutanan.
- Khaira, N. M. S., Tambunan, E. P. S., & Idami, Z. (2024). DNA barcoding pada tumbuhan Harimonting (*Rhodomyrtus tomentosa*) menggunakan gen trnL-F. *Jurnal Biologi BEST*, 11(1). <https://jurnal.uisu.ac.id/index.php/best/article/download/8440/6139>
- Koentjoro, M. P., & Prasetyo, E. N. (2019). Bioinformatika sebagai metode awal analisis prekursor peptidoglikan endopeptidase pada *Mycobacterium tuberculosis*. Dalam *Prosiding Seminar Nasional Teknologi dan Sains (SNasTekS)* (hlm. 41-50). Surabaya: Universitas Nahdlatul Ulama Surabaya. ISBN: 978-623-91277-6-3.
- Kress, W. J., García-Robledo, C., Uriarte, M., & Erickson, D. L. (2020). DNA barcodes for ecology, evolution, and conservation. *Trends in Ecology & Evolution*, 35(4), 344-361. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2019.11.006>

- Kumar, R., Sobhy, H., Stenberg, P., & Lizardi, P. M. (2019). Genome-wide profiling of DNA methylation and gene expression in human cell lines. *Gene*, 711, 143953. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2019.143953>
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., & Tamura, K. (2020). Primer design for highly polymorphic targets with MEGA X. *Molecular Biology and Evolution*, 37(11), 3392-3396.
- Kusmana, C. (2015). Keanekaragaman hayati (biodiversitas) sebagai elemen kunci ekosistem kota hijau. PROS SEM NAS MASY BIODIV INDON, December 2015. <https://doi.org/10.13057/psnmbi/m010801>
- Kusmana, C. dan Hikmat, A. (2015). The Biodiversity of Flora in Indonesia. *Jurnal Pengelolaan Sumberdaya Alam dan Lingkungan*. Vol. 5No. 2): 187- 198. doi: 10.19081/jpsl.5.2.187.
- Kusmana, C., & Hikmat, A. (2015). Keanekaragaman Hayati Flora di Indonesia. *Jurnal Pengelolaan Sumberdaya Alam dan Lingkungan*, 5(2), 187–198.
- Leclère, D., Obersteiner, M., Barrett, M., Butchart, S. H. M., Chaudhary, A., De Palma, A., DeClerck, F. A. J., Di Marco, M., Doelman, J. C., Dürauer, M., Freeman, R., Harfoot, M., Hasegawa, T., Hellweg, S., Hilbers, J. P., Hill, S. L. L., Humpenöder, F., Jennings, N., Krisztin, T., ... Young, L. (2020). Bending the curve of terrestrial biodiversity needs an integrated strategy. *Nature*, 585(7826), 551-556. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2705-y>
- Lee, J.H., et al. (2017). Comprehensive Primer Design Criteria for Molecular Analysis. *Genetic Research International*, 2017, 8prometheus624305.
- Leroy, G., Carroll, E. L., Bruford, M. W., DeWoody, J. A., Strand, A., Waits, L., & Wang, J. (2019). Next-generation metrics for monitoring genetic erosion within populations of conservation concern. *Evolutionary Applications*, 12(5), 1066-1083. <https://doi.org/10.1111/eva.12783>
- Li, X., Yang, Y., Henry, R. J., Rossetto, M., Wang, Y., & Chen, S. (2021). Plant DNA barcoding: from gene to genome. *Biological Reviews*, 90(1), 157-166. <https://doi.org/10.1111/brv.12104>
- Li, Z., Huang, R., & Xu, C. (2021). Histone Modifications and DNA Replication. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1042, 37-59. https://doi.org/10.1007/978-981-10-6955-0_3
- Liljas, L. (2013). Consensus Sequences. Dalam S. Maloy dan K. Hughes (Penyunting), *Brenner's Encyclopedia of Genetics* (Edisi Kedua) (hlm 163-164). Academic Press. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374984-0.00325-9>.
- Lischer, H. E. L., & Shimizu, K. K. (2017). Reference-guided de novo assembly approach improves genome reconstruction for related species. *BMC Bioinformatics*, 18(1), 474. <https://doi.org/10.1186/s12859-017-1911-6>
- Liu, J., Möller, M., Gao, L. M., Zhang, D. Q., & Li, D. Z. (2019). Geological and ecological vicariance analyzed using two separate genetic markers in the *Taxus* complex (Taxaceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 134, 278-289.
- Liu, L. X., Li, R., Worth, J. R., Li, X., Li, P., Cameron, K. M., & Fu, C. X. (2020). The complete chloroplast genome of *Magnolia grandiflora* and comparative analysis with related Magnoliaceae species. *PeerJ*, 8, e9568.
- Lonardi, E., Dimitriou, N., Kruse, C., Sutcliffe, O. B., & Clench, M. R. (2020). *In silico* prediction of the LC–MS/MS collision-induced dissociation spectra of

- metabolites and designer drugs. *Journal of The American Society for Mass Spectrometry*, 31(8), 1610-1621. <https://doi.org/10.1021/jasms.0c00122>
- Lu, S., Yang, J., Chao, J., & Xu, C. (2020). PRIME: An algorithm for the design of specific PCR primers for genome-wide structural analyses. *Frontiers in Genetics*, 11, 572694.
- Milla, L., Carneiro, J., Cruz, C., Sanmartín, I., & Alsos, I. G. (2023). PhyloAlps: A Phylogenetic Framework and Bioinformatics Pipeline for DNA Metabarcoding of Alpine Plants. *Molecular Ecology Resources*, 23(2), 503-518. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.13689>
- Miyagishima, S., Nishida, K., and Kuroiwa, T. (2003) An Evolutionary Puzzle: Chloroplast and Mitochondrial Division Rings. *Trends in plant science* 8(9): 432–438.
- Nadeem, M.A., Nawaz, M.A., Shahid, M.O., Doğan, Y., Comertpay, G., Yıldız, M., Hatipoğlu, R., Ahmad, F., Alsaleh, A., Labhane, N., Özkan, H., Chung, G., & Baloch, F.S. (2021). DNA molecular markers in plant breeding: Current status and recent advancements in genomic selection and genome editing. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 35(1), 307-326.
- Nurfadilah, S. (2023). Traditional knowledge on the uses of orchids by local people in East Kalimantan, Indonesia. *Biodiversitas*, 24(2), 488-497. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d240206>
- Nurhasanah, A., & Sari, D. (2022). Evaluasi lokus kloroplas untuk DNA barcoding pada marga *S. burahol*. *Agrohorti*, 11(1). Diakses dari <https://ejournal.unipas.ac.id/index.php/Agro/article/view/1105>
- Nurkamila, U. S., & Pharmawati, M. (2014). Ekstraksi dna dari herbarium anggrek. *Simbiosis: Journal of Biological Sciences*, 2(1).
- Nuryady, M. M., Husamah, H., Miharja, F. J., Hindun, I., & Patmawati, P. (2020). Desain dan Optimasi Primer Gen Pengkode MRPA Trypanosoma evansi dan Penerapan pada Pembelajaran Biologi Molekuler. *Jurnal Penelitian Dan Pengkajian Ilmu Pendidikan: ESaintika*, 4(2), 223–233. <https://doi.org/10.36312/e-saintika.v4i2.217>.
- Pang, X., Liu, C., Shi, L., Liu, R., Liang, D., Li, H., ... & Chen, S. (2022). Utility of the trnH-psbA intergenic spacer region for the identification of medicinal plants of Lamiaceae. *Journal of Systematics and Evolution*, 60(1), 116-132.
- Perwitasari, D. A. G., Rohimah, S., Ratnasari, T., Sugiharto, B., & Su'udi, M. (2020). DNA Barcoding of Medicinal Orchid *Dendrobium discolor* Lindl. Tanimbar Using rbcL and ITS genes. *Buletin Penelitian tumbuhan Rempah Dan Obat*, 31(1), 8. <https://doi.org/10.21082/bullittro.v31n1.2020.8-20>
- Peterson GW, Dong Y, Horbach C, Fu YB. 2014. Genotyping-by-sequencing for plant genetic diversity analysis: a lab guide for SNP genotyping. *Diversity*. 2014(6):665-680.
- Pimm, S. L., Jenkins, C. N., Abell, R., Brooks, T. M., Gittleman, J. L., Joppa, L. N., & Raven, P. H. (2014). *The biodiversity of species and their rates of extinction, distribution, and protection*. *Science*, 344(6187), 1246752. <https://doi.org/10.1126/science.124675>
- Rahayu, D. A., & Jannah, M. (2019). Pengembangan primer diagnostik menggunakan penanda mat-K untuk identifikasi kelangkaan tumbuhan di Indonesia. *Jurnal Farmasi Udayana*, 124–130. <https://journal.uinjkt.ac.id/index.php/kauniyah/article/view/27538>

- Ramadany, R. (2020). Barcode DNA tumbuhan Pangi (*Pangium edule* R.) berdasarkan gen *matK*. Neliti. <https://www.neliti.com/id/publications/113769/barcode-dna-tumbuhan-pangi-pangium-edule-r-berdasarkan-gen-matk>
- Ranasinghe, A. G., Yakandawala, K., & Samarasinghe, S. (2021). Molecular characterization and genetic diversity assessment of endangered plant species using *trnL-F* marker. *Biodiversity and Conservation*, 30(5), 1463-1482.
- Rani, W. M., Puspita, R. D., Sefina, N., Sa'adah, N., & Achyar, A. (2024). Analisis Variasi Genetik Gen *L1 HPV-52* Menggunakan RFLP secara *in Silico*. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education (e-Journal)*, 4(1), 82–96. <https://doi.org/10.37311/ijpe.v4i1.24496>
- Rodriguez-Perez, H. (2015). Precision in Molecular Primer Design: Techniques and Considerations. *Journal of Molecular Diagnostics*, 17(4), 405-420.
- Roslim, D. I., & Fitriani, A. (2021). Barcoding DNA pada Tumbuhan Durik-Durik (*Syzygium* sp.) Asal Riau Menggunakan Daerah Gen *ndhF*. *Jurnal Bios Logos*, 11(1), 41–46.
- Sahu, S. K., Thangaraj, M., & Kathiresan, K. (2020). DNA barcoding and molecular systematics of mangroves: A comprehensive analysis in the family Rhizophoraceae. *PLOS ONE*, 15(10), e0240295. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0240295>
- Sari, D. R., Pramono, A., & Utami, S. (2022). Climate change and its effects on plant species in Indonesia. *Jurnal Ilmu Lingkungan*, 20(2), 45-56.
- Sasmito, D. E. K., Kurniawan, R., & Muhimmah, I. (2014, December 6). Karakteristik primer pada Polymerase Chain Reaction (PCR) untuk sekuensing DNA: Mini review. *Seminar Nasional Informatika Medis (SNIMed) V 2014*, Magister Teknik Informatika, Fakultas Teknologi Industri, Universitas Islam Indonesia. Yogyakarta, Indonesia.
- Schmid, M., Steinlein, C., & Feichtinger, W. (2020). Chromosome Banding in Amphibia. XXXVII. Y-Autosome Translocation in *Agalychnis callidryas* (Anura, Hylidae). *Cytogenetic and Genome Research*, 160(1), 9-14. <https://doi.org/10.1159/000506291>
- Angelica, S. (2023). Pengembangan metode FINS (*Forensically Informative Nucleotide Sequence*). Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia. Diakses dari <https://lib.ui.ac.id/detail?id=9999920528805&lokasi=lokal>
- Sindiya, V., Mukarramah, L., Rohimah, S., Perwitasari, D. A. G., & Su'udi, M. (2018). Studi *in silico* potensi DNA barcode pada anggrek langka *Paphiopedilum*. *Biosfer: Jurnal Biologi dan Pendidikan Biologi*, 3(1), 17-26. <https://garuda.kemdikbud.go.id/documents/detail/1646119>
- Singh, V. K., & Kumar, A. (2001). PCR primer design. *Molecular Biology Today*, 2(2), 27–32. Retrieved from <https://ppl-ai-file-upload.s3.amazonaws.com/web/direct-files/attachments/31995163/48440ab1-9cf0-4c3c-816e-bc735e457e28/artikel-kumar.pdf>
- Singh, V., Kumar, A., & Sharma, R. (2022). In-vitro validation strategies for species-specific primers: Parameters affecting assay reliability and reproducibility. *Journal of Microbiological Methods*, 194, 106424.

- Singh, V.K., Govindarajan, R., Naik, S., & Kumar, A. (2020). The effect of hairpin structure on PCR amplification efficiency. *Molecular Biology Reports*, 47(1), 1029-1036.
- Slik, J. W. F., Franklin, J., & Stein, A. (2021). Tropical forest biodiversity resilience and stability. *Nature Reviews Earth & Environment*, 2(6), 357-367. <https://doi.org/10.1038/s43017-021-00170-7>
- Sugiyono. (2005). Metode Penelitian Kuantitatif Kualitatif. Bandung: Alfabeta
- Suharjito, S., Siti Aisyah, N., & Hidayati, N. (2021). *The impact of deforestation on plant biodiversity in Indonesia*. *Biodiversitas*, 22(1), 123-130. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d220101>
- Sultana, T., Hasan, M.M., & Iqbal, A. (2022). Systematic evaluation of primer length for enhancement of PCR specificity and sensitivity: A comprehensive study. *Scientific Reports*, 12(1), 9758.
- Suparman. (2012). Markah molekuler dalam identifikasi dan analisis kekerabatan tumbuhan serta implikasinya bagi mata kuliah genetika. *Jurnal Bioedukasi*.1(1):59–68. Available at: <http://ejournal.unkhair.ac.id/index.php/bioedukasi/article/view/155>.
- Suryadi, A., Suhendra, R., & Wulandari, D. (2014). Desain primer PCR secara in silico dan pengujian struktur primer. *Jurnal Bioteknologi*, 10(3), 15–22. <https://jurnalfkipuntad.com/index.php/ejipbiol/article/view/1169>
- Sutomo, S., & Oktavia, G. A. E. (2023). Traditional ecological knowledge on plant uses by local people around Batukahu Nature Reserve, Bali. *Biodiversitas*, 24(3), 1043-1049. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d240319>
- Sutrisno, A., et al. (2016). Optimization of Primer Parameters in Molecular Research. *Biotechnological Research*, 2(3), 112-125.
- Taberlet, P., Bonin, A., Zinger, L., & Coissac, E. (2019). Environmental DNA: For Biodiversity Research and Monitoring. Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/oso/9780198767220.001.0001>
- Thornton, B., & Basu, C. (2020). Optimization and troubleshooting in PCR. *Current Protocols in Essential Laboratory Techniques*, 20(2), e42.
- Triesita, N. I. P., Masruroh, I. H., & Sulistiono, A. M. S. (2018). Hubungan Kekerabatan Rana Berdasarkan Gen cyt b Berbasis *In silico* sebagai Bukti Adanya Evolusi Molekuler. *Prosiding Seminar Nasional VI Hayat*, 6(1), 164–178. <https://doi.org/https://doi.org/10.29407/hayati.v6i1.643>
- Trimanto, T., Rahadianoro, A., Hapsari, L., & Narulita, S. (2023). Germination rate and vegetative propagation of the rare plant *Myristica teijsmannii* Miq. from Bawean Island, Indonesia. *Biodiversitas*, 24(4), 2290-2297. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d240440>
- Trimanto, T., & Hapsari, L. (2022). Morphological Characterization and Seed Germination Study of Wild Banana *Musa acuminata* var. *flava* (Ridl.) Nasution. *Journal of Tropical Biodiversity and Biotechnology*, 7(1), Article 66645. <https://doi.org/10.22146/jtbb.66645>
- van der Valk, T., de Manuel, M., Marques-Bonet, T., & Guschanski, K. (2021). Estimates of genetic load in small populations suggest extensive purging of deleterious alleles. *Nature Ecology & Evolution*, 5(7), 1033-1042. <https://doi.org/10.1038/s41559-021-01448-6>

- Verma, M., Gupta, S.J., & Chaudhary, R. (2021). Optimization of PCR parameters for amplification of degraded DNA samples in forensic studies. *International Journal of Legal Medicine*, 135(3), 1023-1031.
- Wang, H., Wu, Y., Chen, L., & Sudhir, P.R. (2021). Optimization of PCR amplification across multiple target regions through primer design with balanced melting temperatures. *BMC Bioinformatics*, 22(1), 238.
- Wang, J. F., Gong, X., Chiang, Y. C., & Kuroda, C. (2013). Phylogenetic patterns and disjunct distribution in *Ligularia hodgsonii* Hook.(*Asteraceae*). *Journal of Biogeography*, 40(9), 1741-175.
- Wang, J., Raskin, L., Samuels, D.C., Shyr, Y., & Guo, Y. (2020). Genome measures used for quality control are dependent on gene function and ancestry. *Bioinformatics*, 36(5), 1542-1549.
- Widyatmoko, D., Suryana, N., Suhatman, A., & Rustandi, U. (2020). Konservasi tumbuhan terancam punah di Kebun Raya Cibodas, Indonesia. *Biodiversitas*, 21(4), 1326-1336. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d210404>
- WWF. (2020). *Indonesia's biodiversity: A critical review*. World Wildlife Fund.
- Yang, L., Sun, Z., Xue, Y., Zhang, D., Zhang, J., & Shi, T. (2020). Evaluation of cross-amplification success of chloroplast microsatellites in the genus *Salix* using in silico PCR and experimental validation. *Scientific Reports*, 10(1), 11140.
- Ye, J., Coulouris, G., Zaretskaya, I., Cutcutache, I., Rozen, S., & Madden, T. L. (2012). Primer-BLAST: A tool to design target-specific primers for polymerase chain reaction. *BMC Bioinformatics*, 13, 134. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-13-134>
- Zhang, J., Li, H., Yang, J., Liu, A., & Sun, X. (2020). Advanced applications of chloroplast DNA markers in plant biology and evolution. *Journal of Systematics and Evolution*, 58(4), 577-592.
- Zhang, L., & Li, W.H. (2022). The impact of GC content distribution in PCR primers on amplification efficiency and bias: A comprehensive analysis. *Scientific Reports*, 12(1), 3491.
- Zhang, L., Kasif, S., Cantor, C. R., & Broude, N. E. (2014). Bioinformatics Tools for Modern Primer Design. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 9(1), e201402001.
- Zhang, Y., Li, J., Yan, C., Guo, Y., & Li, Z. (2021). Comparative analysis of chloroplast genomes and molecular identification of *Fritillaria* species based on trnL-F intron. *PeerJ*, 9, e12099.
- Zhang, Y., Skaar, I., Sulyok, M., Liu, X., Rao, M., & Taylor, J.W. (2020). The microbiome and metabolites in fermented Pu-erh tea as revealed by high-throughput sequencing and quantitative multiplex metabolite analysis. *PLOS ONE*, 15(5), e0233895.
- Zhang, Y., Sun, Y., Wu, L., & Wang, Y. (2019). CandiPrimer: A powerful primer design tool for quantitative PCR, NGS, and molecular diagnostics. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(17), 4323.