

BAB V

SIMPULAN, IMPLIKASI, DAN REKOMENDASI

5.1 Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa efektivitas penanda gen *rpoC1* dalam mendeteksi kelangkaan tumbuhan melalui perancangan primer diagnostik secara *in silico* masih terbatas. Primer telah berhasil dirancang berdasarkan sekuen konsensus *rpoC1* sepanjang 2157 pb yang diperoleh dari 24 sekuen spesies tumbuhan langka. Dari 182 kandidat primer yang dihasilkan, 17 primer terpilih sebagai kandidat potensial berdasarkan kriteria panjang, kandungan GC dan suhu leleh. Uji *in silico* PCR menunjukkan bahwa pasangan primer terbaik mampu mengamplifikasi 84-88% dari 25 sekuen spesies awal.

Ketika diuji terhadap 10 sekuen spesies tumbuhan langka tambahan dan 10 sekuen spesies non-langka, tidak ditemukan hasil amplifikasi positif, sehingga efektivitas generalisasi primer terbaik terhadap spesies baru belum dapat dibuktikan. Beberapa primer non-potensial justru menunjukkan hasil amplifikasi positif meskipun dalam persentase yang rendah hingga sedang. Dengan demikian, efektivitas gen *rpoC1* sebagai penanda molekuler dalam mendeteksi tumbuhan langka secara *in silico* dinilai belum sepenuhnya optimal dan masih memerlukan pengembangan lebih lanjut, baik dari sisi desain primer maupun validasi biologis.

5.2 Implikasi

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa:

1. Desain primer *in silico* dengan parameter standar belum tentu menjamin efektivitas universal terhadap keragaman sekuen lintas spesies.
2. Keberhasilan amplifikasi tidak hanya dipengaruhi oleh parameter desain seperti panjang dan T_m , namun juga oleh keragaman genetika spesies target dan cakupan representasi sekuen awal dalam proses penyelarasan.
3. Primer yang dianggap “kurang potensial” dalam desain awal ternyata dapat bekerja efektif pada spesies dengan keragaman sekuen tertentu, mengindikasikan pentingnya mempertimbangkan *generalizability* saat memilih kandidat primer.

5.3 Rekomendasi

Berdasarkan hasil penelitian ini, berikut rekomendasi yang dapat diberikan:

1. Perluasan Dataset Desain

Dataset sekuen awal perlu mencakup lebih banyak variasi taksonomi dari spesies target untuk menghindari bias desain dan meningkatkan cakupan primer terhadap spesies-spesies lain yang masih tergolong langka.

2. Evaluasi Primer secara Iteratif

Proses desain dan seleksi primer sebaiknya dilakukan secara iteratif, mencakup evaluasi ulang terhadap primer yang dianggap lemah, karena hasil penelitian ini menunjukkan bahwa efektivitas lapangan bisa tidak terduga.

3. Pertimbangan Parameter Tambahan

Selain panjang, kandungan GC, dan T_m , evaluasi primer juga perlu mempertimbangkan parameter lain seperti pembentukan *dimer*, *hairpin*, serta letak target sekuen terhadap struktur genetik.

4. Uji Eksperimental Lanjutan (*Wet-Lab*)

Meskipun penelitian ini berfokus pada uji *in silico*, hasil primer yang menjanjikan tetap perlu divalidasi lebih lanjut melalui PCR *in vitro* untuk mengonfirmasi efektivitas dan spesifisitas secara biologis.

5. Pengembangan Basis Data dan Pemetaan Taksonomi

Pembuatan basis data lokal dengan anotasi taksonomi yang kuat dapat meningkatkan akurasi desain primer untuk aplikasi konservasi, taksonomi, dan monitoring keanekaragaman hayati secara lebih luas.