

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian deskriptif adalah jenis penelitian yang dilakukan untuk mengetahui keberadaan variabel (Sugiyono, 2005). Daftar jenis tumbuhan langka dari GenBank digunakan sebagai data sekunder untuk penelitian ini. Selanjutnya, untuk mengidentifikasi tumbuhan langka, dilakukan penyejajaran, pembuatan konsensus sekuen, dan mendesain primer menggunakan penanda *rpoC1*.

3.2 Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan pada bulan Desember 2024 hingga Juni 2025 dan dilakukan di Laboratorium Riset Departemen Pendidikan Biologi, Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FPMIPA), Universitas Pendidikan Indonesia, Jalan Dr. Setiabudi No.299, Bandung.

3.3 Alat dan Bahan

Alat yang akan digunakan dalam penelitian ini yaitu perangkat komputer yang terhubung dengan koneksi internet dan bahan berupa sekuen DNA tumbuhan langka yang diperoleh dari GenBank.

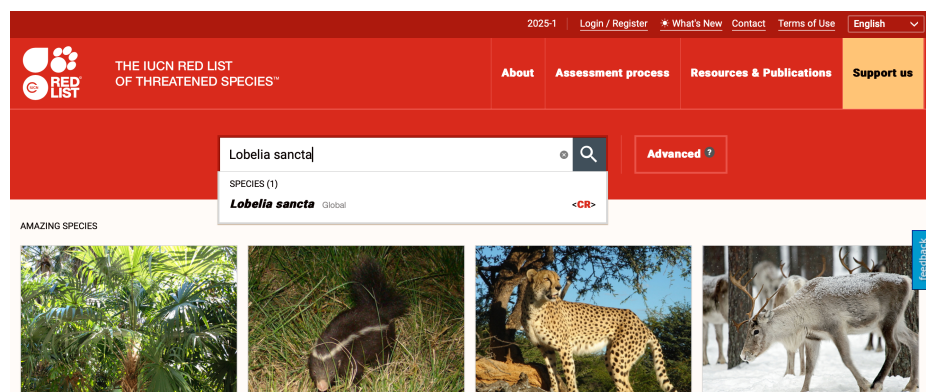
3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Pengambilan Data

Penelitian ini menggunakan data sekuens DNA dari spesies tumbuhan langka yang diperoleh berdasarkan daftar yang diterbitkan oleh Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Press serta beberapa artikel ilmiah terkait. Pemilihan spesies dilakukan secara acak, dengan mempertimbangkan ketersediaan data sekuens di basis data GenBank. Proses pencarian difokuskan pada gen *rpoC1* menggunakan nomor akses spesifik untuk memudahkan pencarian sekuens melalui situs <https://www.NCBI.nlm.nih.gov/>. Selain itu, informasi tambahan juga dikumpulkan dari artikel ilmiah yang diperoleh melalui pencarian di Google Scholar dan ResearchGate, menggunakan kata kunci seperti “*DNA Barcoding*”, “*rpoC1*”, “*Rare Plants DNA Sequences*”, serta istilah lain yang sesuai dengan spesies target.

Data dalam penelitian ini disesuaikan dengan klasifikasi kelangkaan yang ditetapkan oleh *International Union for Conservation of Nature* (IUCN), yang mencakup kategori seperti *critically endangered* (CR; kritis), *endangered* (EN; genting), dan *vulnerable* (VU; rentan). Berikut cara memperoleh data tumbuhan pada IUCN Redlist.

Informasi dari IUCN dapat diakses dengan mengetikkan "IUCN" pada kolom pencarian di *Google* atau langsung melalui laman <https://www.IUCNredlist.org/>, di mana nama spesies yang dicari dapat dimasukkan di kotak pencarian (Gambar 3.1). Gambar 3.2 memperlihatkan hasil pencarian dari spesies *Lobelia sancta*. Dari data yang ditampilkan, dapat diketahui pada bagian ‘*The Red List Assessment*’ bahwa spesies ini dikategorikan sebagai CR, dengan tanggal penilaian akhir (‘*Last Assessed*’) pada 13 Mei 2009. Selain itu, pada bagian ‘*Scope of Assessment*’ tercantum status Global, yang menunjukkan bahwa secara global spesies ini termasuk dalam kategori *Critically Endangered* (CR).



Gambar 3.1 Laman IUCN

(Sumber : *Internasional Union for Conservation of Nature*)

Lobelia sancta

ABSTRACT

Lobelia sancta has most recently been assessed for *The IUCN Red List of Threatened Species* in 2009. *Lobelia sancta* is listed as Critically Endangered under criteria B1ab(ii)+2ab(ii).

Download Text Overview

THE RED LIST ASSESSMENT

► Mwangoka, M., Ndangalasi, H., Kindeketa, W., Luke, W.R.Q., Kabuye, C., Kalema, J., Minani, V., Kelbessa, E., Gereau, R.E. ...

LAST ASSESSED
13 May 2009

SCOPE OF ASSESSMENT
Global

Assessment in detail

NOT EVALUATED	DATA DEFICIENT	LEAST CONCERN	NEARLY THREATENED	VULNERABLE	ENDANGERED	CRITICALLY ENDANGERED	EXTINCT IN THE WILD	EXTINCT
NE	DD	LC	NT	VU	EN	CR	EW	EX

Gambar 3.2 Informasi Data *Lobelia sancta* pada Laman IUCN

(Sumber : *Internasional Union for Conservation of Nature*)

Aisyah Fikria Fauziah, 2025

DETEKSI MOLEKULER TUMBUHAN LANGKA MENGGUNAKAN MARKA *rpoC1* SECARA IN SILICO

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

Tabel 3.1 menyajikan data sekunder mengenai tumbuhan langka yang digunakan untuk desain primer, meliputi nama ilmiah tumbuhan, nomor akses, serta jumlah pasangan basa (pb) yang memudahkan pencarian data sekuen beserta ukurannya di pangkalan data GenBank. Sebanyak 25 sekuen spesies tumbuhan langka dikumpulkan dalam data tersebut. Selain itu, Tabel 3.2 dan Tabel 3.3 menampilkan data sekunder tumbuhan langka dan non-langka untuk pengujian efektivitas, masing-masing terdiri dari 10 spesies.

Tabel 3.1 Data Sekunder Macam-Macam Tumbuhan Langka berdasarkan Penanda *rpoC1* untuk Desain Primer

No.	Familia	Nama Spesies	Nomor Akses	Jumlah pb	Status IUCN
1	Acanthaceae	<i>Justicia flava</i>	NC_044862.1	2064	VU
2	Akaniaceae	<i>Bretschneidera sinensis</i>	NC_037753.1	2076	EN
3	Alismataceae	<i>Sagittaria lichuanensis</i>	OK589351.1	2052	EN
4	Asteraceae	<i>Carramboa trujillensis</i>	KJ434454.1	2091	EN
5		<i>Dendrosenecio cheranganiensis</i>	NC_037956.1	2091	EN
6	Berberidaceae	<i>Gymnospermium microrrhynchum</i>	NC_030061.1	2076	EN
7	Campanulaceae	<i>Sclerotheca viridiflora</i>	NC_035396.1	2049	CR
8		<i>Lobelia yuccoides</i>	NC_035395.1	2049	EN
9		<i>Lobelia sancta</i>	NC_035386.1	2049	CR
10	Geraniaceae	<i>Pelargonium cotyledonis</i>	EU922580.1	2070	CR
11	Hydrangeaceae	<i>Kirengeshoma palmata</i>	NC_044808.1	2061	EN
12	Hydrocharitaceae	<i>Najas flexilis</i>	KM373909.1	2055	VU
13	Magnoliaceae	<i>Magnolia officinalis</i>	KY085916.1	2046	EN
14	Marchantiaceae	<i>Marchantia paleacea</i>	X04465.1	2055	VU
15	Myristicaceae	<i>Horsfieldia pandurifolia</i>	NC_042225.1	2052	EN
16	Nyssaceae	<i>Diplopanax stachyanthus</i>	MG524991.1	2061	VU
17	Pandanaceae	<i>Martellidendron hornei</i>	MT046760.1	2061	VU
18	Solanaceae	<i>Solanum paucissectum</i>	NC_041624.1	2046	EN
19		<i>Solanum hypacrarthrum</i>	NC_041611.1	2046	EN
20		<i>Solanum cajamarquense</i>	NC_041599.1	2046	EN
21		<i>Solanum albornozii</i>	NC_041590.1	2046	EN
22		<i>Solanum acroglossum</i>	NC_041588.1	2046	EN
23		<i>Solanum achacachense</i>	NC_041587.1	2046	EN

No.	Familia	Nama Spesies	Nomor Akses	Jumlah pb	Status IUCN
24	Solanaceae	<i>Capsicum tovarii</i>	NC_033526.1	2067	EN
25	Ulmaceae	<i>Ulmus americana</i>	NC_044473.1	2046	EN

Tabel 3.2 Data Sekunder Macam-Macam Tumbuhan Langka berdasarkan Penanda *rpoc1* untuk Uji Efektivitas

No.	Familia	Nama Spesies	Nomor Akses	Jumlah pb	Status IUCN
1	Araucariaceae	<i>Agathis dammara</i>	AB650587.1	2394	VU
2	Cupressaceae	<i>Calocedrus formosana</i>	AB715258.1	2118	EN
3	Isoetaceae	<i>Isoetes malinverniana</i>	OM870180.1	2914	CR
4		<i>Isoetes azorica</i>	OM870175.1	2919	VU
5	Pinaceae	<i>Picea morrisonicola</i>	AB547998.1	2772	VU
6	Taxaceae	<i>Torreya jackii</i>	MK249064.1	2118	EN
7		<i>Torreya taxifolia</i>	MK249063.1	2118	CR
8		<i>Torreya californica</i>	MK249062.1	2118	VU
9	Zamiaceae	<i>Zamia furfuracea</i>	JQ770267.1	2764	EN
10		<i>Ceratozamia hildae</i>	JQ770266.1	2766	CR

Tabel 3.3 Data Sekunder Macam-Macam Tumbuhan Tidak Langka berdasarkan Penanda *rpoc1* untuk Uji Efektivitas

No.	Familia	Nama Spesies	Nomor Akses	Jumlah pb	Status IUCN
1	Annonaceae	<i>Cananga odorata</i>	KU645819.1	2055	LC
2	Fabaceae	<i>Butea monosperma</i>	KY628020.1	2875	LC
3	Geraniaceae	<i>Pelargonium luridum</i>	KU535491.1	2079	LC
4	Isoetaceae	<i>Isoetes welwitschii</i>	OM870260.1	2931	LC
5	Isoetaceae	<i>Isoetes sampathkumaranii</i>	OM870186.1	2914	LC
6		<i>Isoetes schweinfurthii</i>	OM870183.1	2906	LC
7		<i>Isoetes duriei</i>	OM870176.1	2918	LC
8	Moringaceae	<i>Moringa oleifera</i>	KY697382.1	2837	LC
9	Poaceae	<i>Cenchrus ciliaris</i>	KY860696.1	2052	LC
10	Podocarpaceae	<i>Podocarpus totara</i>	JN627389.1	2454	LC

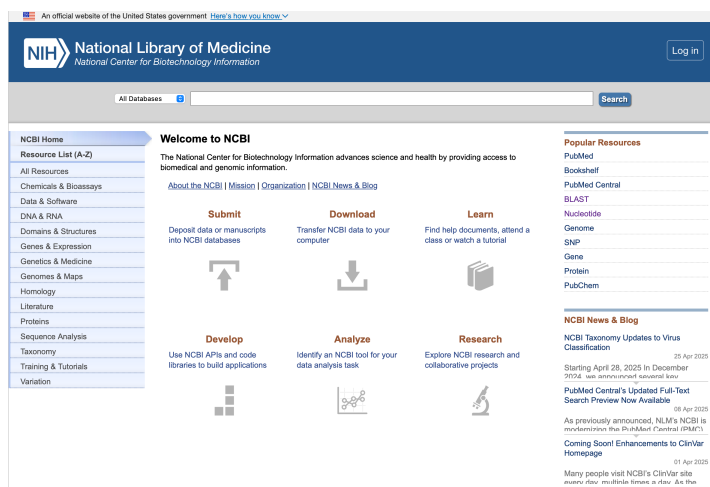
Keterangan: Kritis (*Critically Endangered*/CR), Genting (*Endangered*/EN), Rawan (*Vulnerable*/VU)

Aisyah Fikria Fauziah, 2025

DETEKSI MOLEKULER TUMBUHAN LANGKA MENGGUNAKAN MARKA *rpoc1* SECARA IN SILICO

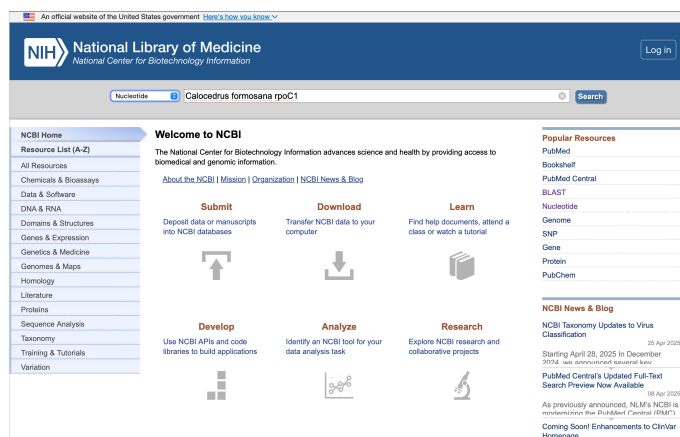
Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

Sekuens DNA diperoleh dari GenBank melalui situs resmi *National Center for Biotechnology Information* (NCBI). Untuk mengakses sekuen tersebut, "NCBI" diketik di kolom pencarian *Google* atau langsung mengunjungi laman <https://www.NCBI.nlm.nih.gov/> (Gambar 3.3). Pencarian dilakukan dengan memasukkan nama spesies dan gen penandanya, misalnya “*Calocedrus formosana rpoC1*”, sebagaimana diperlihatkan pada Gambar 3.4. Hasil pencarian sekuens DNA spesies *Calocedrus formosana* dengan penanda *rpoC1* dapat dilihat pada Gambar 3.5. Penjelasan beberapa istilah penting yang muncul dalam proses pencarian tersebut disajikan dalam Tabel 3.4.



Gambar 3.3 Laman NCBI

(Sumber : *National Center of Biotechnology Information*)



Gambar 3.4 Tipe Sekuen Diubah Menjadi “*Nucleotide*”, kemudian Nama Spesies dan Penandanya Dimasukkan

(Sumber : *National Center of Biotechnology Information*)

Terdapat enam kolom sekuens yang masing-masing terdiri dari 36 baris, dengan setiap baris memuat 10 karakter nukleotida. Untuk keperluan penelitian, sekuens dalam format FASTA dapat diperoleh dengan memilih opsi “FASTA” yang terletak di pojok kiri atas tampilan (Gambar 3.6). Informasi sekuens yang dibutuhkan ditampilkan pada Gambar 3.7, kemudian data tersebut disalin dan ditempelkan ke dalam perangkat lunak NotePad sebagaimana ditunjukkan pada Gambar 3.8.

Calocedrus formosana chloroplast rpoC1 gene for RNA polymerase beta subunit-1, complete cds

GenBank: AB715258.1

[FASTA](#) [Graphics](#)

Gambar 3.6 Opsi “FASTA” untuk Memperoleh FASTA Format dari Sekuen tersebut.

FASTA - Send to: ▾

Calocedrus formosana chloroplast rpoC1 gene for RNA polymerase beta subunit-1, complete cds

GenBank: AB715258.1
[GenBank](#) [Graphics](#)

>AB715258.1 Calocedrus formosana chloroplast rpoC1 gene for RNA polymerase beta subunit-1, complete cds
 ATGAATGACCAAGATAACACGACCACTTCAAAATGGATTAGTTTCTCCGAGCAGATTCTCGTTGGT
 CTGAAAGAAATATTACCTAATGGAGAAAGAGTTGGACAAGTGACTGCAGAACAGATTTAGATTATAGAAC
 TTATGAACCAATAAGAAATGGATTACTTTGTGAAGAATATTTGGACCTAAGAAAAGGGAGTTTGTGCT
 TGTGTAAGAACCTCCATGATGGAAATGAGAAGGAAACTACGACTCCAATTTTGTACTCAATGTGGAG
 TTGAACCTGTTATTGATCTCGAATTCGAAGATATCGAATGGGATACATTAAGTGGCATGCCAGTTGT
 TCATATTTGGTATTCAAACGACGTCCAGTTTATCGCGAGTCTATTAGATAAACTCGTAAAGAATTA
 GAAGACCCAGTATACGCGATGTTTGTATTACTAGGCCACAGTTAACAAGCCAACCTTATTGCGATTTC
 AGGAGAGAACTTCGTGAATATGAGTCTCAATTTTGGGCAAAAGATATTGCTTCTATCTCTCTGGGATT
 TGGCTATTTCAGAGCGAGAAATTTGCACTGGAGGAAAAGCTATCAGAGAACAAATAGCTGGTCTAGAT
 CTGCAATGATTATAGATCATTCTATATAGAAATGGAAGAAATAGATACAAATATCTATATTATTTT
 CGTCGAGGAGACACAAACCGAATTTTGAAGCAAGACTGCTTTGAAAAATATATAAAGTATGAA
 GAAAAAATCTTTCACTTCAAGAGAAAGGATCGTTTGGTAGCGGATGAATTTGCTAAATATTTT
 ATTCAAAAAATGTAGAACCACAATGGATGTTTATGCTATTACAGTTCTTCTCCGACCTGAGGC
 CAATGTATAAATTAATGAAGTGGAGTACTTTCGATCTCAATGAACCTTATCTAAAGTTATCCG
 TCGAATAAATATCTTTAGAAATCCATAAATGGACTCGTGCAATTTCTAATACCAATTTATTGTTGAT
 CAGAAGAGATTAGTCCAAAAGCGGTAGATGCATTTCTGATAATAGTATAGGCACGCAACCGGTGAAAG
 ATAGTAAGGATAGACCTTATAAATCGTTCTCAGATTTCCTCAAGGGAAGAGGAAGATTTCGTGAAAG
 TTACTTTGAAAAACGGGTCGATTATTCAAGTCTGTTGTTATTGTTAGTTCCTCATCTCTATTATAT
 CAATGTGGATTACCCGAGAAATGGCAATAGAACTTTTCAAGCATTTTAAATTCGTGATCTAGTTGAAC
 GACGATTGCTCCCAATCTAAGAACTGCTAAATTTTAAATTCGAGATAGGAACCTATTATATGGAACAT
 ACTTAAACAGACTATCAGAACTCCATATGTTAAATCGAGACCCACCTTACACAGATTAGGAATA
 CAAGCATTTCTACCTGTTTAAATAAAGAACGTCGCTTCGTTACACCTATTGGTTGTGAGGATTTA
 ATCGGACTTTGACGGAGATCAGATGGCTGTCACGTAACCTTTATCTATGGAAGCTCAAGTGAAGCTCG
 TTACTTATGTTTTCCATCTCAATCTTATCTCCAACTATAGGAGACCTATTGTGTACCGACTCAA
 GATATGCTCTAGGACTTTATAGATCACTCTCAAAAAACAGGCACTTTTGAAGAAATAGGTACCATC
 CGAATAACTCAAAAAAGAGATCGTCTCACCTTCTGTTTATAGCTATGATGATGCGCTTAAAGCTTATGA
 AAAAAACAAATGATTAGACAGTCTTTATGGCTCCGATGGAGGAGAGATAGTACCTCTATTATT
 AATTGAGTAAATCGAGAACTTCTATCGAAGTTCAATATGAATCTTCGGTACCTTACGAAATCTATG
 ATCATTTTAGAATAAGAAAGGTAGAGTGGGAAAATCTGAATAAATACATTGAAACACCGTTGGTCTG
 TATTGTTTAAATCGAGAAATAGAAAGGCTATAAAGGCTTGTGGACTTTTGATATCCGACAAGAAATG
 TCATATTCAAGATTTAA

Gambar 3.7 Data dalam Format FASTA

```
>AB715258.1 Calocedrus formosana chloroplast rpoC1 gene for RNA polymerase beta subunit-1,
complete cds
ATGAATGACCAGAATAAACACGAACAACTTCAAATGGATTAGTTTCTCCGAGCAGATTCTCGCTTGGT
CTGAAAGAATATTACCTAATGGAGAAAGAGTTGGCAAGTGACTGCAGAACAGATTTAGATTATAGAAC
TTATGAACCAATAAGAAATGGATTACTTTGTGAAGAATATTGGACCTAAGAAAAGGGAGTTTGTGCT
TGTGTAACCACTCAATGATGGAAATGAGAAGGAAACTACGACTCCAATTTTGTACTCAATGTGGAG
TTGAACCTTTGATTGATCCTCGAATTCGAAGATATCGAATGGGATACATTAACTGGCATGTCAGTTGT
TCATATTTGGTATTTCAAACGACGTCCTCAGTTATATCGCGAGTCTATTAGATAAACTCGTAAGAATTA
GAAGACCCAGTATACGCGATGTTGTATTACTAGGCCACAGTTAAACAGCCAACTTTATGCGATTTC
AGGGAGAACCTCGTGAATATGAGTCTCAATTTGGGCAAAAGATTTGCTTCTTATCTCTTGGGATTT
TGCCTATTTCAAGAGCGAGAATTTGCCACTGGAGGAAAAGCTATCAGAGAACAAATAGCTGGTCTAGAT
CTGCAATGATTATAGATCATTATATAGAATGGAAGAAAATAGATACAAAATATCTATATTATTTT
CGTGGAGGAGACAAACCGAATTTTGAAGCAAGACTGCTCTTTGAAAAATATATAAAAGTATGAA
GAAAAAATCTTTTCACTTCAAAGAAGAAAGGATCGTTTGGTAGACGGATGAAATTTGCTAAATATTTT
ATTCAAATAAATGTAGAACCACAATGGATGGTTTATGCTATTACCGATTCTCTCCGACCTGAGGC
CAATGTATAAATTAATGAAGTGGAGTACTTCTCGGATCTCAATGAACCTTTATCTAAAGTTATCCG
TCGAAATAAATCTTTAGAAATCAATAAATGGACTCGTGCAATTTCTAATACCAATTTATTGTTTGTAT
CAGAAGAGATTAGTCAAAAAGCGTAGATGCACTTCTGATAATAGTATAGGCACGCAACCGGTGAAAG
ATAGTAGAGATAGACTTATAAATCGTTCTCAGATTCTCTCAAGGGAAGAGGAGATTTCGTGAAG
TTTACTTGGAAAACGGTGCATTATTCAGGTGCTTCTGTTATTGTTGAGTCCCATCTCTCATTTATAT
CAATGTGGATTACCCGAGAAATGGCAATAGAATTTTCAAGCAATTTTAAATCGTGATCTAGTTGAAC
GACAGATTGCTCCCAATCTAAGAAGTCTAAATTTTAAATCGAGATAGGAACTATTATATGGAACAT
ACTTAAACAGACTATCAAGACATCCCATTTGTTAAATGAGCACCACCTTACACAGATTAGGAATA
CAAGCACTTTACCTGTTTAAATAAAGAACGTGCCATTGGTTACACCAATGGTTTGTGAGGATTTA
ATGCGGACTTTGACGGAGATCAGATGGCTGTCCAGTACTTTTATCTATGGAAGCTCAAGTGAAGCTCG
TTTACTTATGTTTCCCATCTCAATCTTATCTCTCAACTATAGGAGACCTATTGTGTACCGACTCAA
GATATGCTTACGAGCTTTATAGATCAACTCTTCAAAAAACAGGGCAATTTGAAATAGGTACCATG
CGAATAACTCAAAAAGAAGATCGTCTCACCCTCGTTTATAGCTATGATGATGCGCTTAAAGCTATGA
ACAAAAACAAATGATTAGACAGTCTTTATGGCTCGGATGGAGGAGAGATATAGATACCTCTATTAT
AATTCAGTAAATCGAGAATCTCTATCGAAGTTCAATATGAATCTTTCGTTACCTTCTACGAAATCTATG
ATCATTTTGAATAAAGAAAGTAGAGTGGGGAATACTGAATAAATACATTGCAACACCGTTGGTGG
TATTCGTTTAAATCGAGAAATAGAAGAGCTATAAAGGCTTGTGGACTTTTGATATCCGACAAGAAATG
TCATATTCAGAATTTAA
```

Gambar 3.8 Data pada Perangkat Lunak NotePad

Pengubahan nama data dilakukan agar lebih mudah dibaca, yaitu dengan menghapus informasi lain selain nama spesies, penanda, dan simbol '>'. Spasi pada nama diganti dengan tanda '_', dan tanda '>' tetap dipertahankan di awal nama agar formatnya benar (Gambar 3.9). Prosedur ini dilakukan untuk seluruh tumbuhan yang menjadi objek penelitian. Setelah data dikumpulkan, semuanya disimpan dalam satu file yang sama seperti terlihat pada Gambar 3.10. Penyimpanan data dalam satu file bertujuan untuk memudahkan pengelolaan saat akan digunakan, dan file disimpan dengan nama sesuai kebutuhan penelitian.

```
>Calocedrus_formosana_rpoC1
ATGAATGACCAGAATAAACACGAACAACTTCAAATGGATTAGTTTCTCCGAGCAGATTCTCGCTTGGT
CTGAAAGAATATTACCTAATGGAGAAAGAGTTGGCAAGTGACTGCAGAACAGATTTAGATTATAGAAC
TTATGAACCAATAAGAAATGGATTACTTTGTGAAGAATATTGGACCTAAGAAAAGGGAGTTTGTGCT
TGTGTAACCACTCAATGATGGAAATGAGAAGGAAACTACGACTCCAATTTTGTACTCAATGTGGAG
TTGAACCTTTGATTGATCCTCGAATTCGAAGATATCGAATGGGATACATTAACTGGCATGTCAGTTGT
TCATATTTGGTATTTCAAACGACGTCCTCAGTTATATCGCGAGTCTATTAGATAAACTCGTAAGAATTA
GAAGACCCAGTATACGCGATGTTGTATTACTAGGCCACAGTTAAACAGCCAACTTTATGCGATTTC
AGGGAGAACCTCGTGAATATGAGTCTCAATTTGGGCAAAAGATTTGCTTCTTATCTCTTGGGATTT
TGCCTATTTCAAGAGCGAGAATTTGCCACTGGAGGAAAAGCTATCAGAGAACAAATAGCTGGTCTAGAT
CTGCAATGATTATAGATCATTATATAGAATGGAAGAAAATAGATACAAAATATCTATATTATTTT
CGTGGAGGAGACAAACCGAATTTTGAAGCAAGACTGCTCTTTGAAAAATATATAAAAGTATGAA
GAAAAAATCTTTTCACTTCAAAGAAGAAAGGATCGTTTGGTAGACGGATGAAATTTGCTAAATATTTT
ATTCAAATAAATGTAGAACCACAATGGATGGTTTATGCTATTACCGATTCTCTCCGACCTGAGGC
CAATGTATAAATTAATGAAGTGGAGTACTTCTCGGATCTCAATGAACCTTTATCTAAAGTTATCCG
TCGAAATAAATCTTTTGAATCCATAAATGGACTCGTGCAATTTCTAATACCAATTTATTGTTTGTAT
CAGAAGAGATTAGTCAAAAAGCGTAGATGCACTTCTGATAATAGTATAGGCACGCAACCGGTGAAAG
ATAGTAGAGATAGACTTATAAATCGTTCTCAGATTCTCTCAAGGGAAGAGGAGATTTCGTGAAG
TTTACTTGGAAAACGGGTGCATTATTCAGGTGCTTCTGTTATTGTTGAGTCCCATCTCTCATTTATAT
CAATGTGGATTACCCGAGAAATGGCAATAGAATTTTCAAGCAATTTTAAATCGTGATCTAGTTGAAC
GACAGATTGCTCCCAATCTAAGAAGTCTAAATTTTAAATCGAGATAGGAACTATTATATGGAACAT
ACTTAAACAGACTATCAAGACATCCCATATTGTTAAATCGAGCACCACCTTACACAGATTAGGAATA
CAAGCACTTTACCTGTTTAAATAAAGAACGTGCCATTGGTTACACCAATGGTTTGTGAGGATTTA
ATGCGGACTTTGACGGAGATCAGATGGCTGTCCAGTACTTTTATCTATGGAAGCTCAAGTGAAGCTCG
TTTACTTATGTTTCCCATCTCAATCTTATCTCTCAACTATAGGAGACCTATTGTGTACCGACTCAA
GATATGCTTACGAGCTTTATAGATCAACTCTTCAAAAAACAGGGCAATTTATGAAATAGGTACCATG
CGAATAACTCAAAAAGAAGATCGTCTCACCCTCGTTTATAGCTATGATGATGCGCTTAAAGCTATGA
ACAAAAACAAATGATTAGACAGTCTTTATGGCTCGGATGGAGGAGAGATATAGATACCTCTATTAT
AATTCAGTAAATCGAGAATCTCTATCGAAGTTCAATATGAATCTTTCGTTACCTTCTACGAAATCTATG
ATCATTTTGAATAAAGAAAGTAGAGTGGGGAATACTGAATAAATACATTGCAACACCGTTGGTGG
TATTCGTTTAAATCGAGAAATAGAAGAGCTATAAAGGCTTGTGGACTTTTGATATCCGACAAGAAATG
TCATATTCAGAATTTAA
```

Gambar 3.9 Format Penamaan

```

>Torreya_jackii_rpoC1
ATGAGTGACGAGGATAAACATCAACAACCTCGAATGGATAGTTCTCCCGAGCAGATCTCTGGTGGT
CTGGAAGAATTTTACCTAATGGAAGAGTGGGAGAGTACAGACATATCTAGATATAAAC
TTATGAACCAAGAGAGATGGATATTTTGTGAAAAATCTTGGACCTAAAAAAGGGGAGTTGTGCT
TGTGAAAAATCTCCAGTGATCAGAATGAAAGGAGACCAAACTCAATTTTGTGCCAATGTGGAG
TTGAACCTGTTGTGATCTCGAATCTGAAGATATCAATGGGATACATTAACCTGGCATGCTCAGTTGT
TCATATTTGGTATTTTCAACGGGCTCCAGTTATATCGGATCTATTAGATAAACTCGTAAGAATA
GAAGACCGATATATCGGATGTTTATATAGTGTCTAGGCTAAGGCGCACTATTTCGATTC
AGGTTTCACTTAATAGGATCAATCTGGCAGAGATATGCTTATATCTCTCTGGGATTTTGG
GCTATTCAAGAGAGAGAAATAGCCACTGGGGGAAAGCTATCAGAGACCACTAGCGGCTGGATCTG
CAAAATTTCTGGATGTTTATATGAATGGAAGAGATGGACGAAATATATCTATACTATTACGG
GGACTACTATGCGGAAAGAGATAGTTTGTAAAGGATTAAGAGATGTATGAATTAATGAATGA
CAAGAGCTTCAAAACTTCGAAGAGAGAGATCTTTTGTAGACCATGAGATATCTAATATTTT
ATTCAAGCAAAATAGAGAACCAATGGATGTTTATCTTATACAGCTTCTCTCCGATCTGAGGC
CAATGTTTCAATAGAGAGATGGATGATTAGTTCGGATCTCAATGAATTTATCAACAGTATCCG
TCGAATATATCTTCTTATCACTTGAAGAAATCACTAATGATTTGTAAAGCGGATTTATGACTGAT
CAAGAGAGATAGTCTCAAGAGAGCTAGATCACTCTGTATACCGGATCGGCGCAACAGTAGAG
ACAGTCATGATAGACCTATAAATCGTTATCAGATTCATCCAGGCAAGAGAGAGATTTGTGAAA
TTTACTTGGAAACAGTGTGATTTACGTCGTTCTGTATTTGTGGTGGTCCCTCTTCTTCTGAT
CAATGGATTTCCCGAAGATCGCAGTAGAGCTTTTCAAGCATTTTAACTCGTGTCTAATGAAC
GACAAATGCTCCCACTTAAGAGCAGTAAAGATATATTCGAGATAGGGGACCATATATGGAAGCT
ACTTAAGAAATATGCGAAGAGATCGGATTTTAAATCGAGGCTACCTTACAGATTAGGAATA
CAAGCATTTATACATTTTAAAGAGAGAGCTGCTATTCGTTTACATCAATGGTTTGTGAGGATTTA
ATGCGGATTTGAGGAGATCAGATGGCTGCGACGATCTCTCATGAGGAGCTCAAGTAGAGCTCG
TTTACTTATGTTTCTCATCTCAATCTTATCTCTCACTATAGGATATCTTATGGTACGAGCTCAA
GATATGCTCTGAGCTTATAGATCACTCTTCAAAAAAGGATTTATGAAATAGGTATACAG
CAGATATCTAAAAAGAGATGATTTCACTCTGTTTCTAGTTATAGATGACCTCAGAGCTATACA
ACAAAAAGGATTTGATTAGACAGTCCGTTATGGCTCGGTTGGGGGAGAGATAGATATCCCTATTATA
AATTCAGTAAACGAGAGTCCCTTGAAGTTCAATGAATCTTGGGTACTTTTACGAAATCCATC
AACATTTTCGAATAGAAAGAGTAAAGGGGAAATCTTAATAATACATTTGCAACAGCGTTGGTGG
TACTGTTTAAATCGAGAAATAGAGAGGCAATAAAGGTTTGTGGGCTTATGATATCGCAGAGAGCTG
TCACTATTCAAGATATAA
>Torreya_taxifolia_rpoC1
ATGAGTGACGAGGATAAACATCAACAACCTCGAATGGATAGTTCTCCCGAGCAGATCTCTGGTGGT
CTGGAAGAATTTTACCTAATGGAAGAGTGGGAGAGTACAGACATATCTAGATATAAAC
TTATGAACCAAGAGAGATGGATATTTTGTGAAAAATCTTGGACCTAAAAAAGGGGAGTTGTGCT
TGTGAAAAATCTCCAGTGATCAGAATGAAAGGAGACCAAACTCAATTTTGTGCCAATGTGGAG
TTGAACCTGTTGTGATCTCGAATCTGAAGATATCAATGGGATACATTAACCTGGCATGCTCAGTTGT
TCATATTTGGTATTTTCAACGGGCTCCAGTTATATCGGATCTATTAGATAAACTCGTAAGAATA
GAAGACCGATATATCGGATGTTTATATAGTGTCTAGGCTAAGGCGCACTATTTCGATTC
AGGTTTCACTTAATAGGATCAATCTGGCAGAGATATGCTTATATCTCTCTGGGATTTTGG
GCTATTCAAGAGAGAGAAATAGCCACTGGGGGAAAGCTATCAGAGACCACTAGCGGCTGGATCTG
CAAAATTTCTGGATGTTTATATGAATGGAAGAGATGGACGAAATATATCTATACTATTACGG
GGACTACTATGCGGAAAGAGATAGTTTGTAAAGGATTAAGAGATGTATGAATTAATGAATGA
CAAGAGCTTCAAAACTTCGAAGAGAGAGATCTTTTGTAGACCATGAGATATCTAATATTTT
ATTCAAGCAAAATAGAGAACCAATGGATGTTTATCTTATACAGCTTCTCTCCGATCTGAGGC
CAATGTTTCAATAGAGAGATGGATGATTAGTTCGGATCTCAATGAATTTATCAACAGTATCCG
TCGAATATATCTTCTTATCACTTGAAGAAATCACTAATGATTTGTAAAGCGGATTTATGACTGAT
CAAGAGAGATAGTCTCAAGAGAGCTAGATCACTCTGTATACCGGATCGGCGCAACAGTAGAG
ACAGTCATGATAGACCTATAAATCGTTATCAGATTCATCCAGGCAAGAGAGAGATTTGTGAAA
TTTACTTGGAAACAGTGTGATTTACGTCGTTCTGTATTTGTGGTGGTCCCTCTTCTTCTGAT
CAATGGATTTCCCGAAGATCGCAGTAGAGCTTTTCAAGCATTTTAACTCGTGTCTAATGAAC
GACAAATGCTCCCACTTAAGAGCAGTAAAGATATATTCGAGATAGGGGACCATATATGGAAGCT
ACTTAAGAAATATGCGAAGAGATCGGATTTTAAATCGAGGCTACCTTACAGATTAGGAATA
CAAGCATTTATACATTTTAAAGAGAGAGCTGCTATTCGTTTACATCAATGGTTTGTGAGGATTTA
ATGCGGATTTGAGGAGATCAGATGGCTGCGACGATCTCTCATGAGGAGCTCAAGTAGAGCTCG
TTTACTTATGTTTCTCATCTCAATCTTATCTCTCACTATAGGATATCTTATGGTACGAGCTCAA
GATATGCTCTGAGCTTATAGATCACTCTTCAAAAAAGGATTTATGAAATAGGTATACAG
CAGATATCTAAAAAGAGATGATTTCACTCTGTTTCTAGTTATAGATGACCTCAGAGCTATACA
ACAAAAAGGATTTGATTAGACAGTCCGTTATGGCTCGGTTGGGGGAGAGATAGATATCCCTATTATA
AATTCAGTAAACGAGAGTCCCTTGAAGTTCAATGAATCTTGGGTACTTTTACGAAATCCATC
AACATTTTCGAATAGAAAGAGTAAAGGGGAAATCTTAATAATACATTTGCAACAGCGTTGGTGG
TACTGTTTAAATCGAGAAATAGAGAGGCAATAAAGGTTTGTGGGCTTATGATATCGCAGAGAGCTG
TCACTATTCAAGATATAA
>Torreya_californica_rpoC1
ATGAGTGACGAGGATAAACATCAACAACCTCGAATGGATAGTTCTCCCGAGCAGATCTCTGGTGGT
CTGGAAGAATTTTACCTAATGGAAGAGTGGGAGAGTACAGACATATCTAGATATAAAC
TTATGAACCAAGAGAGATGGATATTTTGTGAAAAATCTTGGACCTAAAAAAGGGGAGTTGTGCT
TGTGAAAAATCTCCAGTGATCAGAATGAAAGGAGACCAAACTCAATTTTGTGCCAATGTGGAG
TTGAACCTGTTGTGATCTCGAATCTGAAGATATCAATGGGATACATTAACCTGGCATGCTCAGTTGT
TCATATTTGGTATTTTCAACGGGCTCCAGTTATATCGGATCTATTAGATAAACTCGTAAGAATA
GAAGACCGATATATCGGATGTTTATATAGTGTCTAGGCTAAGGCGCACTATTTCGATTC
AGGTTTCACTTAATAGGATCAATCTGGCAGAGATATGCTTATATCTCTCTGGGATTTTGG
GCTATTCAAGAGAGAGAAATAGCCACTGGGGGAAAGCTATCAGAGACCACTAGCGGCTGGATCTG
CAAAATTTCTGGATGTTTATATGAATGGAAGAGATGGACGAAATATATCTATACTATTACGG
GGACTACTATGCGGAAAGAGATAGTTTGTAAAGGATTAAGAGATGTATGAATTAATGAATGA
CAAGAGCTTCAAAACTTCGAAGAGAGAGATCTTTTGTAGACCATGAGATATCTAATATTTT
ATTCAAGCAAAATAGAGAACCAATGGATGTTTATCTTATACAGCTTCTCTCCGATCTGAGGC
CAATGTTTCAATAGAGAGATGGATGATTAGTTCGGATCTCAATGAATTTATCAACAGTATCCG
TCGAATATATCTTCTTATCACTTGAAGAAATCACTAATGATTTGTAAAGCGGATTTATGACTGAT
CAAGAGAGATAGTCTCAAGAGAGCTAGATCACTCTGTATACCGGATCGGCGCAACAGTAGAG
ACAGTCATGATAGACCTATAAATCGTTATCAGATTCATCCAGGCAAGAGAGAGATTTGTGAAA
TTTACTTGGAAACAGTGTGATTTACGTCGTTCTGTATTTGTGGTGGTCCCTCTTCTTCTGAT
CAATGGATTTCCCGAAGATCGCAGTAGAGCTTTTCAAGCATTTTAACTCGTGTCTAATGAAC
GACAAATGCTCCCACTTAAGAGCAGTAAAGATATATTCGAGATAGGGGACCATATATGGAAGCT
ACTTAAGAAATATGCGAAGAGATCGGATTTTAAATCGAGGCTACCTTACAGATTAGGAATA
CAAGCATTTATACATTTTAAAGAGAGAGCTGCTATTCGTTTACATCAATGGTTTGTGAGGATTTA
ATGCGGATTTGAGGAGATCAGATGGCTGCGACGATCTCTCATGAGGAGCTCAAGTAGAGCTCG
TTTACTTATGTTTCTCATCTCAATCTTATCTCTCACTATAGGATATCTTATGGTACGAGCTCAA
GATATGCTCTGAGCTTATAGATCACTCTTCAAAAAAGGATTTATGAAATAGGTATACAG
CAGATATCTAAAAAGAGATGATTTCACTCTGTTTCTAGTTATAGATGACCTCAGAGCTATACA
ACAAAAAGGATTTGATTAGACAGTCCGTTATGGCTCGGTTGGGGGAGAGATAGATATCCCTATTATA
AATTCAGTAAACGAGAGTCCCTTGAAGTTCAATGAATCTTGGGTACTTTTACGAAATCCATC
AACATTTTCGAATAGAAAGAGTAAAGGGGAAATCTTAATAATACATTTGCAACAGCGTTGGTGG
TACTGTTTAAATCGAGAAATAGAGAGGCAATAAAGGTTTGTGGGCTTATGATATCGCAGAGAGCTG
TCACTATTCAAGATATAA

```

Gambar 3.10 Contoh beberapa Data dalam Format FASTA

3.4.2 Sequence Alignment

Proses pengolahan data meliputi tahap penyusunan, penyesuaian, serta karakterisasi data menggunakan perangkat lunak ClustalX (Thompson *et al.*, 1997). Penting untuk diketahui bahwa ClustalX hanya dapat mengolah data yang tersimpan dalam format FASTA, yang dapat disiapkan melalui aplikasi Notepad. Aplikasi ClustalX sendiri dapat diunduh dari situs <http://www.clustal.org/download/current/>. Adapun langkah-langkah untuk melakukan penyejajaran sekuens (*alignment*) dengan ClustalX disajikan pada Gambar 3.11.

<i>Preprocessing Data – Sequence Alignment</i>	
mulai	
1. Unduh dan instal perangkat lunak ClustalX	
2. Buka aplikasi, lalu pilih menu <i>FILE – Load Sequences</i> untuk memuat data	
3. Pilih file sekuens yang akan dianalisis, lalu klik <i>Open</i>	
4. Lanjutkan dengan mengakses menu <i>ALIGNMENT – Do Complete Alignment</i> untuk memulai proses penyejajaran	
5. Setelah proses selesai, beri nama pada file hasil penyejajaran dan klik <i>OK</i>	
6. Simpan hasilnya dalam format FASTA dengan memilih <i>FILE – Save Sequences As</i> , lalu klik <i>OK</i>	
selesai	

Gambar 3.11 Langkah-Langkah melakukan *Sequence Alignment* menggunakan Perangkat Lunak Clustalx.

Perangkat lunak ClustalX diunduh melalui situs resmi di <http://www.clustal.org/download/current/>. Data yang akan disejajarkan Aisyah Fikria Fauziah, 2025

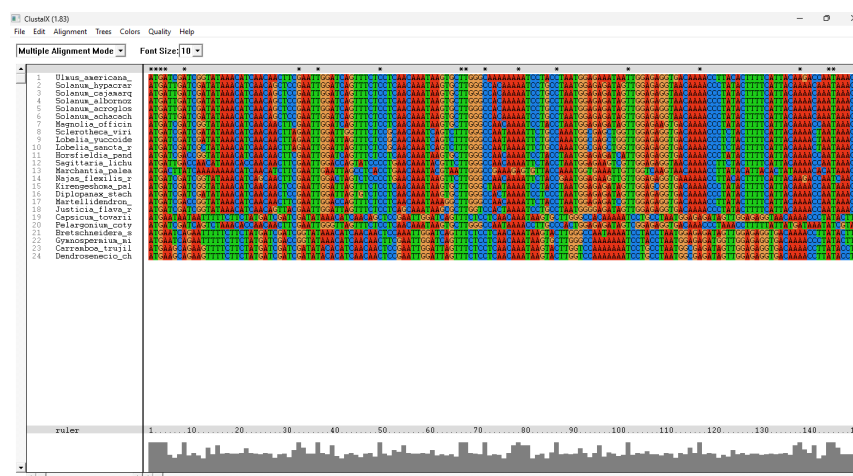
DETEKSI MOLEKULER TUMBUHAN TUMBUHAN MENGGUNAKAN MARKA *rpoC1* SECARA IN SILICO

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

dimasukkan ke dalam ClustalX (Gambar 3.12), hasil tampilan akan terlihat seperti pada Gambar 3.13, yang menunjukkan beberapa sekuen dengan panjang yang bervariasi.



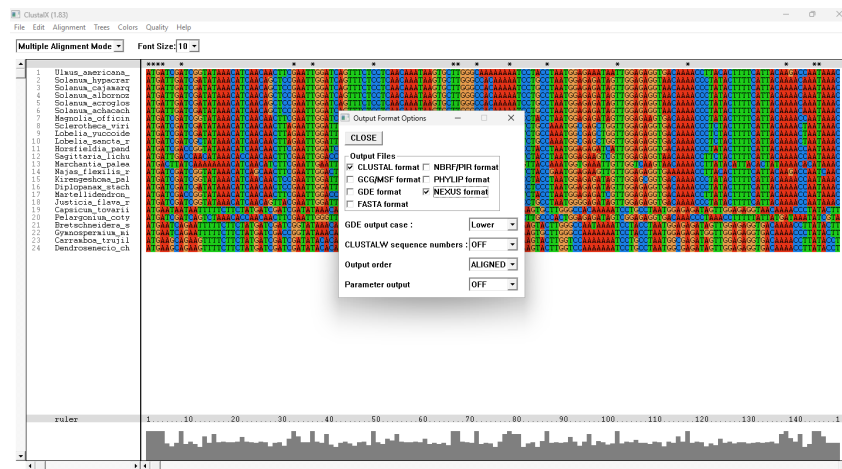
Gambar 3.12 Perangkat Lunak ClustalX



Gambar 3.13 Data Sekuen DNA Dimasukkan pada ClustalX

Sebelum memulai proses penyejajaran, simpan data dalam format NEXUS dengan cara klik menu *Alignment*, pilih *Output Format File*, kemudian *NEXUS format* dipilih seperti yang ditunjukkan pada Gambar 3.14. Penyejajaran dilakukan dengan memilih menu *ALIGNMENT – Do Complete Alignment* (Gambar 3.15). Setelah semua tahapan selesai, hasil penyejajaran akan muncul seperti pada Gambar 3.16, yang menunjukkan perbedaan antara sekuen sebelum dan sesudah disejajarkan. Data yang berhasil disejajarkan akan ditandai dengan munculnya pesan “*NEXUS-Alignment file created*” pada bagian bawah layar. Dari proses ini,

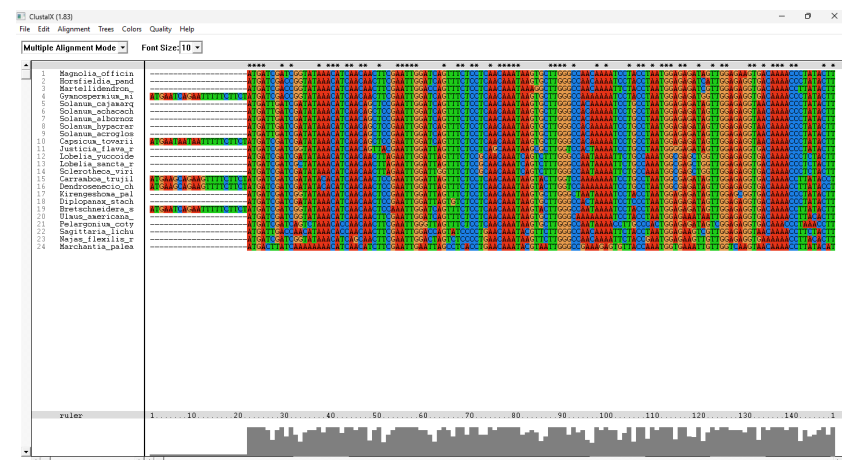
ClustalX menghasilkan tiga file keluaran yaitu dengan ekstensi ‘.aln’, ‘.dnd’, dan ‘.nxs’.



Gambar 3.14 Data Disimpan dalam Format NEXUS



Gambar 3.15 Lakukan Penyejajaran dengan Cara Pilih Menu *ALIGNMENT – Do Complete Alignment*



Gambar 3.16 Sekuen DNA Setelah Dilakukan Proses Penyejajaran

Aisyah Fikria Fauziah, 2025

DETEKSI MOLEKULER TUMBUHAN LANGKA MENGGUNAKAN MARKA *rpoC1* SECARA IN SILICO

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

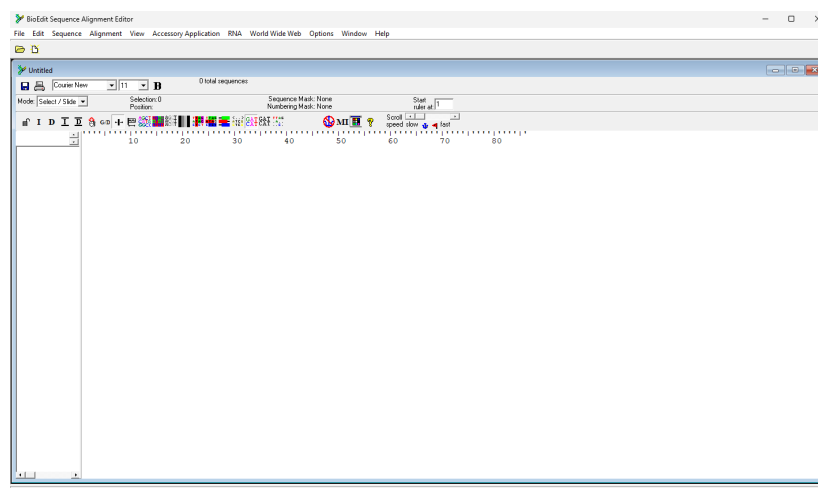
3.4.3 Membuat Konsensus Sekuen

Konsensus sekuen disusun menggunakan perangkat lunak BioEdit *Sequence Alignment Editor* (TA, 1999). Langkah-langkah dalam pembuatan konsensus sekuen dengan BioEdit ditunjukkan pada Gambar 3.17.

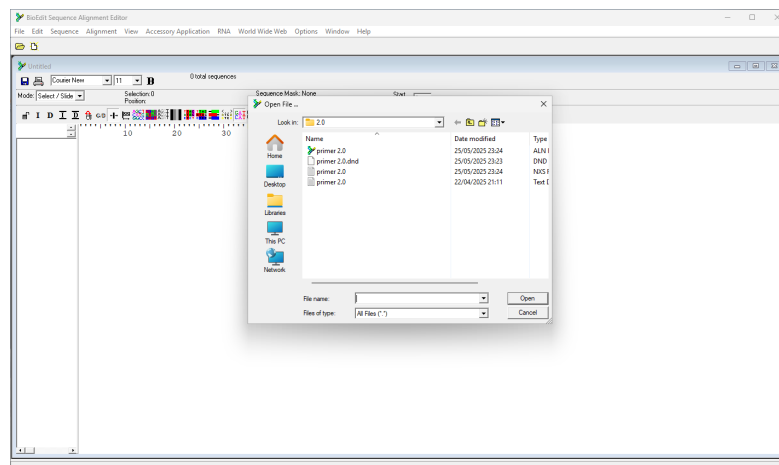
<i>Preprocessing Data</i> – Pembuatan Konsensus Sekuen
mulai 1. Jalankan aplikasi BioEdit 2. Impor file data melalui menu <i>FILE – Open</i> 3. Pastikan data sekuen memiliki ekstensi ‘txt’ atau ‘aln’ agar dapat terbaca 4. Pilih menu <i>ALIGNMENT</i> – kemudian klik opsi <i>Create Consensus Sequences</i> 5. Simpan hasil konsensus dengan memberi nama file dan klik <i>OK</i> 6. Pilih <i>FILE – Save Sequences As</i>, dan simpan dalam format FASTA, lalu klik <i>OK</i> selesai

Gambar 3.17 Langkah-Langkah Pembuatan Konsensus Sekuen menggunakan BioEdit.

Perangkat lunak BioEdit dapat diunduh melalui laman <https://bioedit.software.informer.com>. Setelah dijalankan, antarmuka BioEdit akan terlihat seperti pada Gambar 3.18. Data hasil penyejajaran sekuen dimasukkan dengan mengklik ikon “Folder” di bagian kiri atas tampilan (Gambar 3.19).

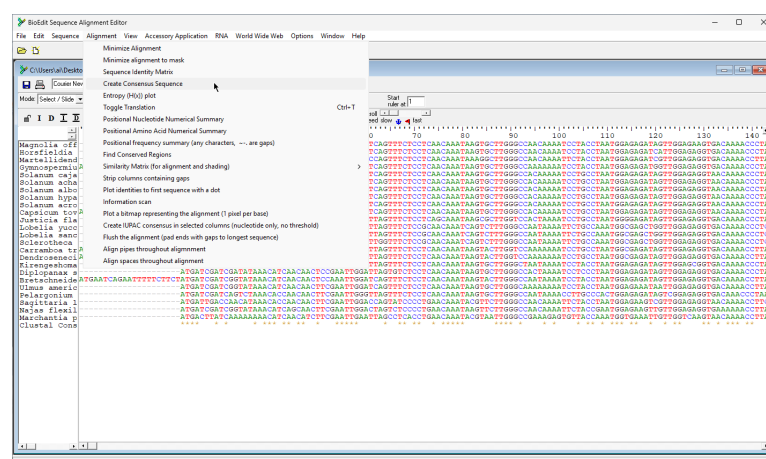


Gambar 3.18 Perangkat Lunak BioEdit

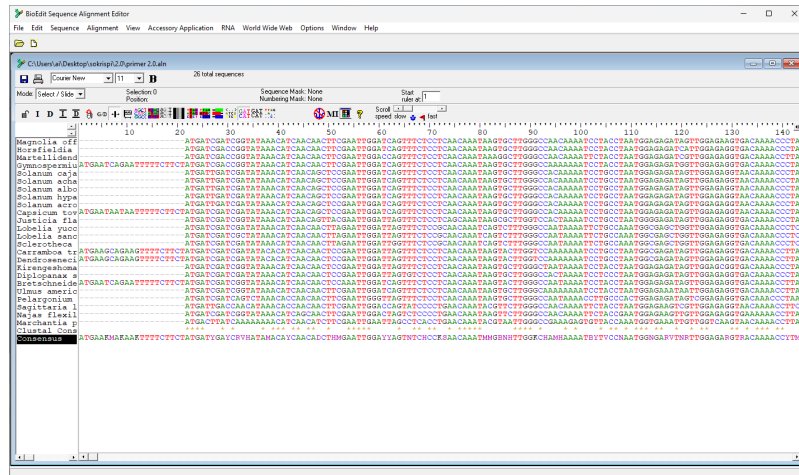


Gambar 3.19 Data yang Telah Dikumpulkan Dimasukkan, Klik Menu ‘Folder’ pada Sebelah Kiri Atas.

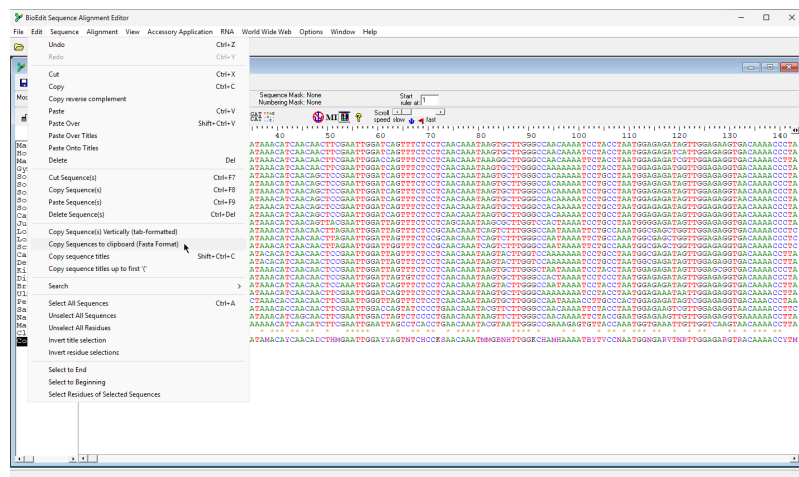
Data yang telah dimasukkan kemudian dibuat konsensus sekuennya. Menu “*Alignment*” dan “*Create Consensus Sequence*” dipilih (Gambar 3.20). Hasil konsensus sekuen muncul pada baris terakhir dengan label “*Consensus*” seperti terlihat pada Gambar 3.21. Data konsensus ini kemudian disimpan dalam format FASTA (Gambar 3.22) dan disimpan ke dalam perangkat lunak NotePad untuk keperluan pembuatan primer (Gambar 3.23). Basa DNA selain ‘A’, ‘T’, ‘G’, dan ‘C’ yang muncul pada konsensus kemudian diubah sesuai dengan kode nukleotida IUPAC yang dijelaskan pada Gambar 3.24 dan disimpan kembali ke NotePad 3.25. Setelah konsensus sekuen selesai, langkah selanjutnya adalah melakukan uji coba *in silico* PCR, yang diawali dengan proses desain primer.



Gambar 3.20 Konsensus Sekuen Dibuat dengan Cara Klik Menu ‘*Alignment*’, kemudian Pilih ‘*Create Consensus Sequence*’



Gambar 3.21 Hasil Konsensus Sekuen

Gambar 3.22 Data Disimpan dalam FASTA Format dengan Cara *Block* Konsensus – Edit – *Copy Sequences to Clipboard* (FASTA Format)

```
>Consensus
ATGAAGKAKAAKTTTCTTCTATGATGAYGAYCRVHATMACAYCAACADCTHMGAAITGGGAYAGTNTCHCKSACAACAAATMMGBNHTTGGKCHAMH
AAATATVTCGNAATGGNGARVNTRTTGGAGCTACAGAAACCTTGHACHITTCATTAAGATAAATATCTGAARCAHAAATACCGDGAAGAAAGAT
GGHTTTRITTTTGGAAARAATTTTGGNCTATTAHAAAGYGGVATTTGGYDCTGTGGAADATTCAGGNDATHGRADMTAAHAAACGAGARABACGND
VAATTTTGTGAACAATGYGGRGTCARTTTTGTGATCTCGVATACGAGRTATCAAAATGGGHTAYAHAACTVGRTRYCNGCTRRBACATCTGD
TGGTATTTTRARACGTCTTCTAGTATATATGCVARTCTTTACGATTAACCBCTTAAGAVTTAGAARRVCTHGTATAYVCGGRTCTSTATCCBRAT
TTTTHHTTTTCTAGGTCYRTARVDAARCBACCTTTTACGATTAACCBCTTAAGAVTTAGAARRVCTHGTATAYVCGGRTCTSTATCCBRAT
YCHHTTTTCTTACTACVWRRGVTCTTCTGADHNTTTCGMAATMGAGARATNTCAGCHGNGSRGCTKCTATTHGAVARCAATTRCGVATVYR
GATTTTTCGNDVDTTNTARAKNHTTCTGKYVGRAGTGGARGADTTDGNDAVARGDRNMMDNGMTGGDAGWHAATVGAARATVRAARVTT
VRRMGAGAGAAAGAYATTTTGTAGAGHTRVRAVTRGCTAARMAATTHHTTGDAAACAAATRTARARCHRAAYGGATGTTTTRTHTBTATTA
CCRGTTCTTCCYCCBGAATTTTGMGDCONATVMTVADATAGVGRGGDTTAAAYARTRASHTNGATHDDAATGAATHTATMGAGARTTMTYHTD
MGDAAYATTCYCTTMMNGATYTHTTARBANCAAGTRDAKHTACDCMGRDVHTTARTAAVYDKSTCAVAGARARNTVBTACAGAGACGYGTGAT
RCRCTCTYATAAAGGDRBHHNGGRCACCDHARRRGAHRTCATAAATARRVTTACAARTCNVTTTCDGADTATATGARGGNAAGAGRR
AGACTTCGYGADACTYTRCTTGGHAAAMGRGTGATATTTCTGGDCGDTCHGTBATTTGHTDGGHCYTYDCTTTCATTVCACTCRVTGTGAT
CTCHCGNGAAATNGCAATAGARCTTTTCARVCAITTTGNTATCGHGVHYATAYAGAVACRHBYTGCTYCBAAATVTRGVNTVGCNARVAKMND
ATMDVRAAAARARVNDTRTDGGRAATCTTCRRGAARTTGTGADGRVCAICYGATATRTYTRAAATAGAGCCCHACNCTYGCATMGATTA
GGHATACARGCVTTCVWVCNRTTTAGTVRADGGDGHGCTATTTDKTACATCCDITAGTITGYAADDGGHTTYAATGNGAYTTITGAYGGGAT
CAATGGCBGTTCAYGTRECTTTATCHITRGAGCTCAAGYDAGGNCNRTTACTATGTTTCTCATANRAATCTHTTTRCTCNCRCTATHGGR
GAHCCATTTSBGYCCNACBACAGATATGCTYKBBGRCCTCTARTNTTAACRAKYGRDAHVRTCGRGATTTTRTDAAATAGATATATATCHD
YSDAATYDHARAHTATBMAAATVMAANDRYGVNRDWRMBVAYWYNAGTATACGAAAAVBATANWMDVDAAGAAHCHNTTTTITBDART
KYATATGAKGCDHTTGGVGTCTTATCRDRCRAAAMRAATYNAITTABVBAGTBCTTTDGGTCBCGRTGGCRAHTAGATBDAYGHVTHATTDBHCKA
ATAAATCDAGAARBDCYATYGARRTCAHTATGAATCTTDDGNAHYTHYATGARATTTATGGVAYTHCTCTAARTARNARAARTVGTATAAAA
AAAVARABNBNTINTATBAYATTCGAACHACWYKGNVYATATBTYTTTATCGMVAATHGAAYARGCYVACADGGDWTTVBCDDRHHVHV
HKWAAVMDANVVBDYNDHVBVDHWNWMMRMKMGWATAA
```

Gambar 3.23 Hasil FASTA Disimpan pada Perangkat Lunak NotePad

IUPAC nucleotide code	Base
A	Adenine
C	Cytosine
G	Guanine
T (or U)	Thymine (or Uracil)
R	A or G
Y	C or T
S	G or C
W	A or T
K	G or T
M	A or C
B	C or G or T
D	A or G or T
H	A or C or T
V	A or C or G
N	any base
. or -	gap

Gambar 3.24 Kode Nukleotida IUPAC

```

>Converted_consensus
ATGAAGAAGAAGTTTCTCTATGATCGACCAAAATAAACACCAACATCTAAGAATTGGACCAAGTCTCACCGGAACAAATAAGCCATTGGGCAAAA
AAAACTCCTACCAATGGCGAATCATTGGAGAAGTAACAAAACCTTAACATTTTCATTACGATAAATATCGTAAAAACAAATAAACCTGAAAAAGAT
GGATTATTTTGTGAAAAATCTTTGGCCCTATAAAAAAGCGGAATTTGCTCTTGTGGAAATATCGAGCTATAGAATATAAAAAAGAAAAACACGACT
AAATTTTGTGAACAATGCGGAGTCGAATTTTGTGATTCTCGAATACGAAGATATCAAAATGGGATACATAAACTAGCATACCCCGTACCCCATGTGTT
TGGTATTTAAACGCTTCTCTAGTTATATCGCAATCTTTTAGATAAACCCCTTAAGAATTAGAAAACTAGTATACCGGATGTGTATCCCAAT
TTTGATTTTGTAGGCCCATAAATAAAAAACCCATTTTACGATTACAAAGGTTTCATTCAACGAATATGAAAAACACCAACGGAAAGACACATC
CCCATCTTTTACTACCAAAAGCTTCATCGATAACTTTCGAAATAGAGAAATCTCCACAGGCGGAGGTGCTATAAGAAAAACAAATAGCCAAATCCA
GATTACGAATTATATAAGCATTTCATTGGCAGAATGGAAGATTTTGTGAAAAAGATCAATCCGATGGTAAAGAAATAGGAAAAATAAAAAATTT
AAAAAGAAGAAAAAGACCTTTTAAATTAGACGAATAAACTAGCTAAAAATTTGATTCTAACAAATATAAAAAACCAAAACGGATGGTTTATGACTATTA
CCAGTTCTTCCCCCGAATTAAAGTCCCATAAATAATAGACGAGGTAAACCAATAAGATCCGATATTATGAAATATATAGAAGAAATATCATT
AGTAACAATACCCCTTACCGATCATTAAACCCAGTATAGACACTCCAGATGAATTAATAACTGGTCAAGAAAAACACTACAAGAAGCCGTGGAT
ACACTTCTCGATAACGGTACAAGCGGACAACCTAAAAAGAATATCATAATAAACTTACAAATCCCTTTCTGATTTAATTGAAGGCAAGGAAGGA
AGAGTTCCGATACTACTTGGAAAAAGAGTCGATTATTCAGGTCGTTCACTCATTGTAGTTGGACCCCTCTCTTTCATTACATCAATGTGGATTA
CCACGCGAAATCGCAATAGACATTTTCCAAACATTTGTCTTCGAGAATAATCAGAAAAACACCTGCTCCCAACATAAGCACTGCCAAAAAGATA
ATTATAAAAAAAACCTTTTATTTGGAAAAATCTTCAAGAAATATGAATGAACACCCCGTATTACTAAATAGAGCACCACCACTGCATAGATTA
GGAATACAAGCATTCCAACCCATTTAGTAAATGGTCGAGCTATTTGTACATCCTTGTAGTTCCGCAATGGATTCAATGCCGACTTTGACGGAGAT
CAATGGCCGTTCAAGTACCTTTATCATTAGAAGCTCAAGCTGAAGCCCATTTACTTATGTTTTCTCATACAAATCTATTATCTCCCACTATAGGA
GAACCCATTTGCGCACCCACCAAGATATGCTCAGCGGACTCTATATCTTAACAAGCGATAAAAAACGAGGATTTTATTCAAATAGATATAATCT
CGTAATCTAAAAAATATCAAAATAAACTACCGAAAAATAACAACCAACAGTATACGAAAAACATACAAATATAAAGAACAATCTTTTCTAAT
GCCATAGAGGCTATTGGAGCTTATCATCAAAAAAAATCCATTTACACAGTCTTTTGGCTCCGATGGCAAAATAGATCTACGAATAATTTTCAGCA
ATAAATCTAGAACTCCCATCGAAATTCATATGAATCTTTTGGCAACTATCATGAAATTTATGAAACTATCTAATAACAAAAAATAGTATAAAA
AAAAAATCCCTTCTATACATTTGAAACAACACGGGCATATTCCTTTTATCGAAAAATAGAAAAAGCCATACATGGTATTACCTTACAAAA
AGAAAAACATACAACCTCCCTAACATTAACAAAAAAGGGATAA

```

Gambar 3.25 Hasil Konsensus sekuen

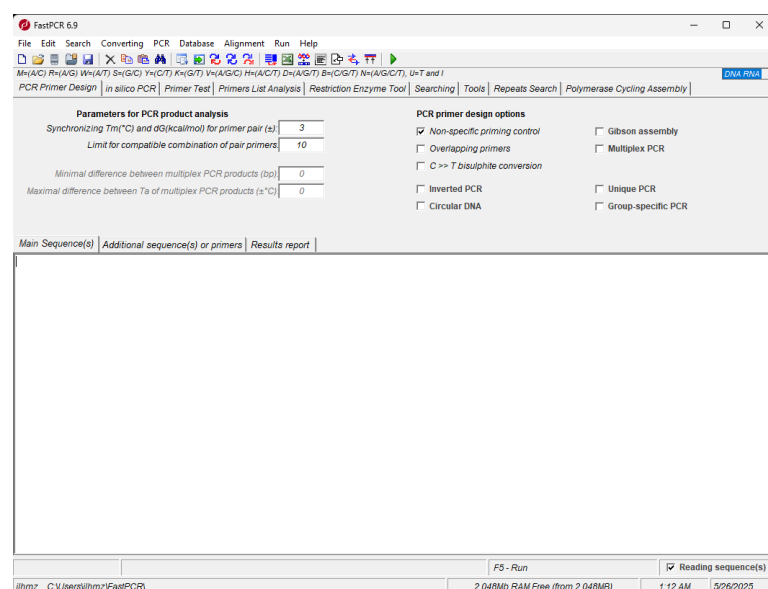
3.4.4 Desain Primer

Pemilihan konsensus sekuens yang memiliki kandidat untuk dibuat menjadi primer dilakukan menggunakan perangkat lunak FastPCR (Kalendar *et al.*, 2017). Perangkat lunak ini dimanfaatkan untuk mengoptimalkan desain primer terhadap urutan DNA atau cDNA target, guna memastikan efisiensi dan selektivitas yang tinggi. Selektivitas dalam konteks ini merujuk pada kemampuan primer untuk secara spesifik mengenali dan berikatan dengan target yang tepat. Selain itu, FastPCR juga berfungsi dalam menentukan lokasi, orientasi, dan panjang amplicon dari primer yang dirancang. Berikut langkah-langkah untuk mendesain primer menggunakan perangkat lunak FastPCR (Gambar 3.26) :

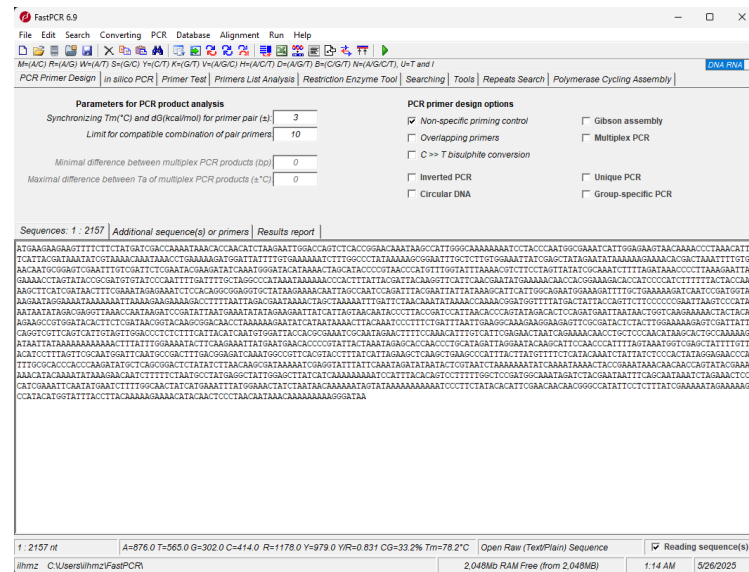
Preprocessing Data – Desain Primer
mulai 1. Buka aplikasi FastPCR 2. Impor file data melalui menu FILE – <i>Open</i> 3. Pilih file konsensus yang akan digunakan dan Klik <i>Open</i> 4. Akses menu <i>PCR PrimerDesign</i>, lalu tekan tombol <i>RUN</i> untuk menghasilkan primer 5. Simpan hasil desain dengan memilih FILE – <i>Save As</i>, lalu simpan dalam format ‘txt’ dan klik OK selesai

Gambar 3.26 Langkah-Langkah Mendesain Primer menggunakan Perangkat Lunak FastPCR.

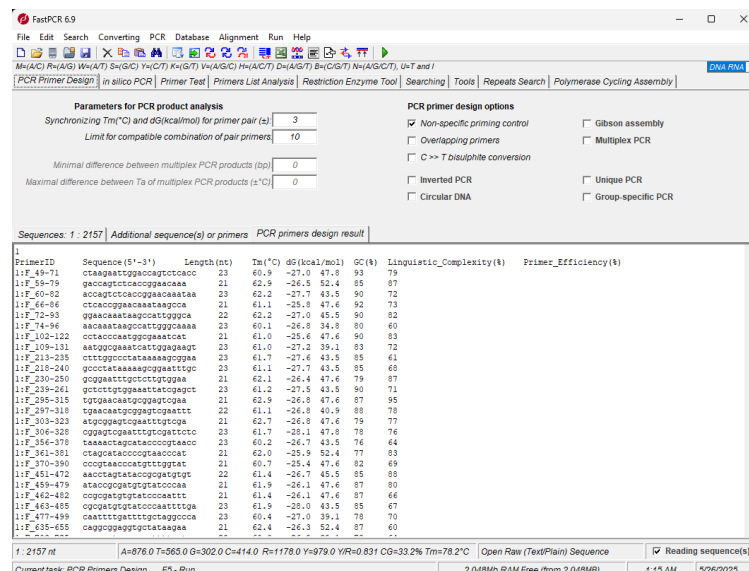
Perangkat lunak FastPCR dapat diunduh melalui situs resmi di <https://primerdigital.com/FastPCR.html>. Tampilan perangkat lunak FastPCR akan terlihat seperti pada Gambar 3.27. Proses desain kandidat primer dilakukan pada menu ‘*PCR Primer Design*’, kemudian konsensus sekuen dimasukkan ke bagian ‘*General Sequences*’ dalam format FASTA (Gambar 3.28), lalu klik tombol ‘*RUN*’. Hasil kandidat primer dari proses ini ditampilkan pada Gambar 3.29, dan selanjutnya file tersebut disimpan dalam format *Microsoft Excel* untuk memudahkan pelaksanaan uji *in silico* PCR.



Gambar 3.27 Perangkat Lunak FastPCR



Gambar 3.28 Konsensus Sekuen Dimasukkan pada FastPCR



Gambar 3.29 Hasil Desain Primer

3.4.5 Uji Coba *In silico* PCR

Optimalisasi primer yang telah dirancang dilakukan menggunakan perangkat lunak *in silico* PCR. Program ini bekerja berdasarkan simulasi reaksi rantai polimerase (PCR) secara komputasional untuk memperkirakan hasil amplifikasi. Melalui proses ini, dapat diperoleh informasi mengenai posisi primer, arah orientasi, serta panjang ampikon yang dihasilkan. Menurut Kalender *et al.* (2011), proses amplifikasi DNA melibatkan beberapa siklus, yaitu: (1) denaturasi, yakni pemisahan untai ganda DNA menjadi untai tunggal; (2) *annealing*, yaitu proses penempelan primer pada templat DNA; dan (3) ekstensi, di mana primer

Aisyah Fikria Fauziah, 2025

DETEKSI MOLEKULER TUMBUHAN LANGKA MENGGUNAKAN MARKA *rpoC1* SECARA *IN SILICO*

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

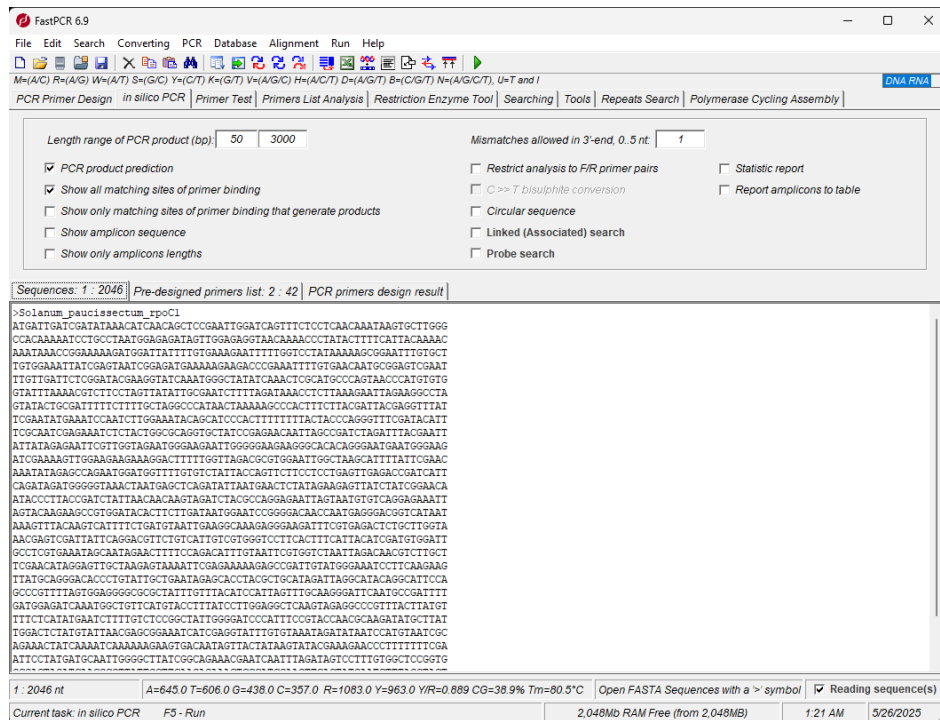
diperpanjang dengan bantuan enzim DNA polimerase. Tahapan perancangan sekuens dan uji *in silico* terhadap primer ini dilakukan menggunakan perangkat lunak FastPCR.

Langkah-langkah untuk uji coba primer dengan *in silico* PCR menggunakan perangkat lunak FastPCR yakni (Gambar 3.30).

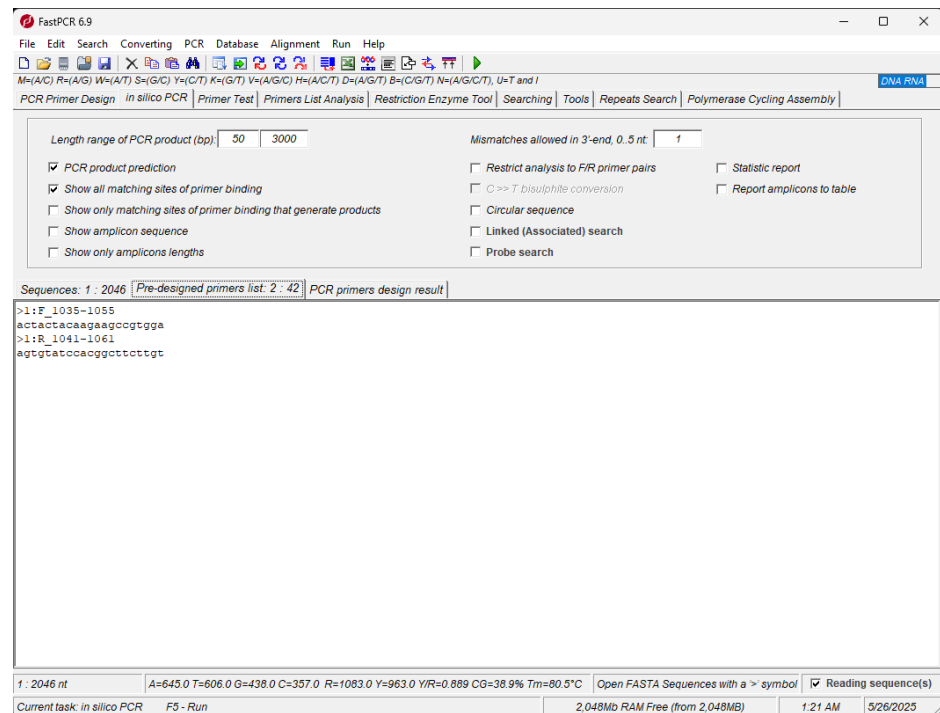
<i>Preprocessing Data – In silico PCR</i>
mulai 1. Jalankan aplikasi FastPCR dan pilih menu <i>In silico PCR</i> 2. Buka file hasil desain primer, lalu pilih salah satu kandidat untuk uji – klik <i>Copy File</i> 3. Tempelkan (<i>Paste</i>) file tersebut ke dalam bagian ‘ <i>Additional Sequences</i> ’ 4. Pilih salah satu sekuens DNA target, lalu <i>Copy File</i> dan tempelkan ke bagian ‘ <i>General Sequence</i> ’ 5. Tekan RUN untuk menjalankan simulasi PCR dan buka bagian ‘ <i>PCR Result</i> ’ untuk melihat hasilnya selesai

Gambar 3.30 Langkah-Langkah Uji Coba Primer dengan *In Silico* PCR menggunakan Perangkat Lunak Fastpcr.

Pada menu ‘*In silico PCR*’, sekuens tumbuhan yang ingin diuji dimasukkan ke bagian ‘*General Sequences*’ (Gambar 3.31), sedangkan pasangan kandidat primer dimasukkan ke bagian ‘*Additional Sequences*’ (Gambar 3.32). Setelah itu, klik ‘*RUN*’ untuk menjalankan simulasi amplifikasi. Hasil amplifikasi akan muncul di bagian ‘*In silico PCR Result*’. Gambar 3.33 memperlihatkan hasil positif, yaitu tumbuhan berhasil diamplifikasi yang ditandai dengan munculnya nama spesies dan ampikon yang dihasilkan. Sebaliknya, hasil negatif, yaitu tumbuhan yang gagal diamplifikasi, ditandai dengan tidak adanya output pada FastPCR seperti pada Gambar 3.34.



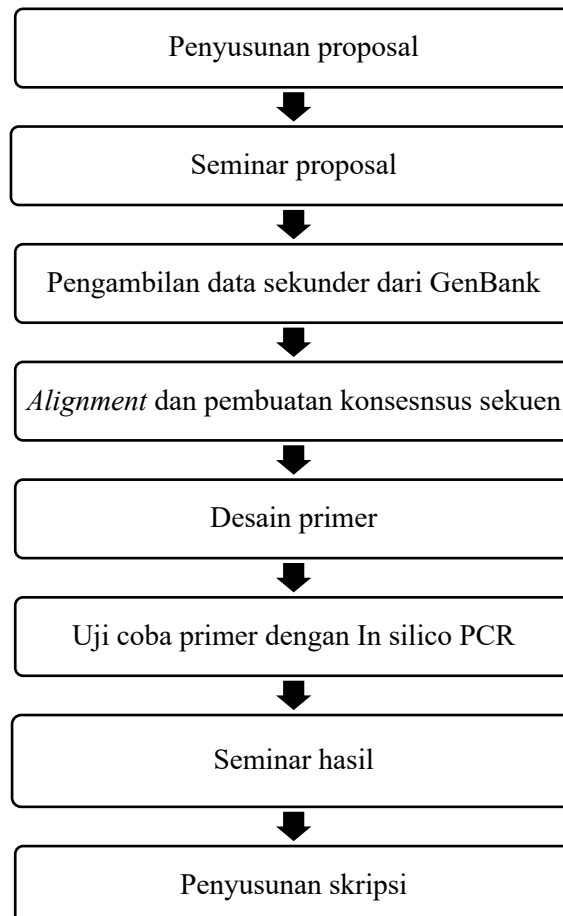
Gambar 3.31 FASTA Tumbuhan Dimasukkan pada FastPCR



Gambar 3.32 Pasangan Kandidat Primer Dimasukkan pada FastPCR

3.5 Alur Penelitian

Dalam rangka mencapai tujuan penelitian ini, beberapa tahapan yang sistematis dan terstruktur telah direncanakan untuk mendukung kelancaran penelitian. Tahapan-tahapan ini ditunjukkan pada Gambar 3.35.



Gambar 3.35 Alur Penelitian