

**ANALISIS IN SILICO BERBASIS PENANDA 18S *Intergenic Spacer*
UNTUK DETEKSI TUMBUHAN LANGKA**

diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains Program Studi Biologi



SKRIPSI

Oleh :
Naila Aulia Rabani
NIM 2109572

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

ANALISIS IN SILICO BERBASIS PENANDA 18S *Intergenic Spacer* UNTUK
DETEKSI TANAMAN LANGKA

Oleh
Naila Aulia Rabani

Sebuah skripsi yang diajukan untuk memenuhi syarat memperoleh gelar Sarjana
pada Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

© Naila Aulia Rabani 2025
Universitas Pendidikan Indonesia
April 2025

Hak cipta dilindungi undang-undang

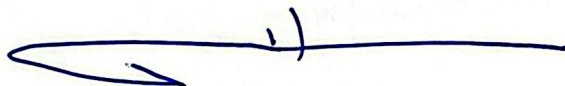
Skripsi ini tidak boleh diperbanyak seluruhnya atau sebagian, dengan dicetak
ulang, difoto kopi, atau cara lainnya tanpa izin dari penulis.

**LEMBAR PENGESAHAN
SKRIPSI**

**ANALISIS IN SILICO BERBASIS PENANDA 18S *Intergenic Spacer*
UNTUK DETEKSI TANAMAN LANGKA**

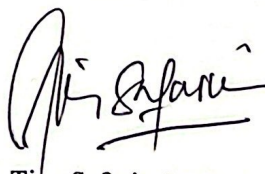
**NAILA AULIA RABANI
NIM 2109572**

Disetujui dan disahkan oleh
Pembimbing I,



Prof. Topik Hidayat, M.Sc., Ph. D.
NIP. 197004101997021001

Pembimbing II,



Hj. Tina Safaria, M.Si.
NIP. 197303172001122002

Mengetahui,
Ketua Program Studi Biologi

Dr. Wahyu Kusumah, M.T.
NIP. 197212301999031001

PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Naila Aulia Rabani

NIM : 2109572

Program Studi : Biologi

Judul Karya : Analisis *In silico* berbasis Penanda 18S *Intergenic Spacer*
untuk Deteksi Tanaman Langka

Dengan ini menyatakan bahwa karya tulis ini merupakan hasil kerja saya sendiri. Saya menjamin bahwa seluruh isi karya ini, baik sebagian maupun keseluruhan, bukan merupakan plagiarisme dari karya orang lain, kecuali pada bagian yang telah dinyatakan dan disebutkan sumbernya dengan jelas.

Jika kemudian hari ditemukan pelanggaran terhadap etika akademik atau unsur plagiarisme, saya bersedia menerima sanksi sesuai peraturan yang berlaku di Universitas Pendidikan Indonesia,

Bandung, Mei 2025

Tanda tangan: _____

Naila Aulia Rabani

ANALISIS IN SILICO BERBASIS PENANDA 18S *Intergenic*

Spacer UNTUK DETEKSI TANAMAN LANGKA

ABSTRAK

Kepunahan spesies telah menjadi salah satu tantangan lingkungan paling signifikan yang dihadapi umat manusia di abad ke-21, dengan banyak tanaman punah setiap tahun. Ancaman kepunahan tanaman disebabkan oleh banyak faktor, salah satunya adalah instabilitas genom yang menyebabkan tanaman tidak dapat beradaptasi. Penelitian ini memanfaatkan pendekatan *in silico* menggunakan penanda 18S *Intergenic Spacer* untuk membantu proses deteksi tanaman langka. Data sekuens DNA dari 23 spesies tanaman yang terancam punah diambil dari GenBank, dengan kategori (CR; Kritis), (EN; Genting), dan (VU; Rentan). Analisis dilakukan dengan membuat FASTA Format menggunakan Notepad, kemudian langkah selanjutnya menggunakan ClustalX untuk penyelarasan sekuens, BioEdit untuk pemrosesan data, serta FastPCR untuk desain primer spesifik dan analisis *In Silico*. Hasil penelitian menunjukkan pasangan primer tumbuhan langka berdasarkan penanda 18S, yaitu 1:F_32-54 : 5'-tgtctcaaagattaagccatgca-3' (*forward*) dan 1:R_1549-1569 : 5'-caccggaccattcaatcggtta-3' (*reverse*) dengan keefektifan primer dalam deteksi tumbuhan langka dengan keberhasilan 100% dan dapat digunakan sebagai salah satu upaya dalam mendeteksi tumbuhan langka yang terancam punah.

Kata Kunci : DNA, Desain Primer, Tumbuhan langka, 18S.

IN SILICO ANALYSIS BASED ON 18S INTERGENIC SPACER MARKER FOR THE DETECTION OF RARE PLANTS

ABSTRACT

Species extinction has become one of the most significant environmental challenges faced by humanity in the 21st century, with numerous plant species disappearing each year. The threat of plant extinction is driven by various factors, one of which is genomic instability, leading to a failure in adaptation to environmental changes. This study employs an in silico approach using the 18S Intergenic Spacer (IGS) marker to assist in the detection of rare plant species. DNA sequence data from 23 endangered plant species were retrieved from GenBank, classified under Critically Endangered (CR), Endangered (EN), and Vulnerable (VU) conservation statuses. The analysis involved preparing FASTA format files using Notepad, followed by sequence alignment with ClustalX, data processing with BioEdit, and specific primer design and in silico analysis using FastPCR. The results revealed a successful pair of specific primers based on the 18S marker, namely F_32–54: 5'-tgtctcaaagattaagccatgca-3' (forward) and R_1549–1569: 5'-caccggaccattcaatcggtta-3' (reverse), with an detection success rate of 100%. These primers show potential as molecular tools for the detection and conservation of endangered rare plant species.

Keywords: DNA, primer design, rare plants, 18S.

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN.....	i
PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME	ii
KATA PENGANTAR.....	iii
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	6
1.3. Tujuan Penelitian	6
1.4. Batasan Penelitian.....	6
1.5. Manfaat Penelitian	6
1.6. Struktur Organisasi Skripsi.....	7
BAB II KAJIAN PUSTAKA	9
2.1. Biodiversitas	9
2.1.1. Tingkat Keanekaragaman Hayati	10
2.2. Tumbuhan Langka dan Status Kelangkaan	12
2.2.1. Hubungan <i>Genom Instability</i> dengan Kelangkaan	14
2.3. Studi In Silico	15
2.3.1. Bioinformatika.....	16
2.3.2. DNA <i>Barcode</i> dan Analisisnya	18
2.4. <i>Deoxyribonucleic Acid</i> (DNA)	21
2.4.2. <i>Intergenic Spacer</i> (IGS).....	22
2.4.3. Penanda 18S <i>Integenic Spacer</i>	24
2.5. Amplifikasi DNA	25
2.5.1. Teknik <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR).....	25

2.5.2. <i>In Silico</i> PCR	27
2.5.3. Primer PCR.....	28
BAB III METODE PENELITIAN.....	31
3.1. Jenis Penelitian	31
3.2. Waktu dan Lokasi Penelitian.....	31
3.3. Alat dan Bahan	31
3.4. Prosedur Penelitian	32
3.4.1. Pengambilan Data.....	32
3.4.2. <i>Sequence Alignment</i>	39
3.4.3. Membuat Konsensus Sekuen DNA	43
3.4.4. Desain Primer	47
3.4.5. Uji Coba <i>In Silico</i> PCR.....	49
3.5. Analisis Data.....	51
3.6. Alur Penelitian.....	53
BAB IV TEMUAN DAN PEMBAHASAN	54
4.1. Temuan dan Pembahasan	54
4.1.1. Hasil Desain Primer.....	54
4.1.2. Hasil Uji Coba <i>In silico</i> PCR.....	59
BAB V SIMPULAN, IMPLIKASI, DAN REKOMENDASI	67
5.1. Simpulan.....	67
5.2. Implikasi	67
5.3. Rekomendasi	68
DAFTAR PUSTAKA	13

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1. Alat yang digunakan dalam penelitian.....	31
Tabel 3.2. Bahan yang digunakan dalam penelitian.....	31
Tabel 3.3. Data sekunder sekuen DNA tumbuhan langka berdasarkan penanda 18S <i>Intergenic Spacer</i>	34
Tabel 4.1. Hasil Kandidat Primer menggunakan Fast PCR	56
Tabel 4.2. Hasil Uji Coba <i>In silico</i> PCR	59
Tabel 4.3. Hasil <i>In-silico</i> PCR	61
Tabel 4.4. Hasil Pasangan Primer	62
Tabel 4.5. Uji Efektivitas Tumbuhan Langka	63
Tabel 4.6. Uji Efektivitas Tumbuhan Non-Langka.....	64

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Alur kerja DNA <i>barcode</i>	19
Gambar 2.2. Struktur DNA	22
Gambar 2.3. Daerah 18S <i>Intergenic Spacer</i>	24
Gambar 3.1. Laman IUCN	32
Gambar 3.2. Informasi data <i>Aquilaria beccariana</i> pada laman IUCN	33
Gambar 3.3. Laman NCBI	35
Gambar 3.4. Tipe sekuen diubah menjadi “ <i>Nucleotide</i> ”, kemudian nama spesies dan penandanya dimasukkan.....	35
Gambar 3.5. Informasi data <i>Aquilaria beccariana</i> menggunakan penanda 18S <i>Intergenic Spacer</i>	36
Gambar 3.6. Kolom “FASTA” diklik untuk memperoleh FASTA Format dari sekuen yang diperlukan.....	36
Gambar 3.7. Data dalam FASTA Format	37
Gambar 3.8. Data pada perangkat lunak NotePad	37
Gambar 3.9. Format penamaan	38
Gambar 3.10. Contoh beberapa data dalam format FASTA	39
Gambar 3.11. Langkah-langkah <i>Sequence alignment</i> menggunakan perangkat lunak ClustalX.....	40
Gambar 3.12. Perangkat Lunak ClustalX.....	40
Gambar 3.13. Data Sekuen DNA yang sudah diinput pada ClustalX.....	41
Gambar 3.14. Data disimpan dalam Format NEXUS.	41
Gambar 3.15. Lakukan Alignment dengan klik ‘ALIGNMENT - Do Complete Alignment.....	42
Gambar 3.16. Sekuen DNA yang telah melalui proses <i>Alignment</i>	42
Gambar 3.17. Langkah-langkah pembuatan konsensus sekuen menggunakan perangkat lunak BioEdit.....	43
Gambar 3.18. Perangkat Lunak BioEdit.	44
Gambar 3.19. Data diinput dengan cara klik simbol Folder pada bagian kiri atas.	44

Gambar 3.20. Konsensus sekuen dibuat dengan cara klik ' <i>Alignment</i> ' kemudian pilih 'Create Consensus Sequence'	45
Gambar 3.21. Hasil Konsensus Sekuen pada bagian paling bawah yang terdapat warna hitam	45
Gambar 3.22. Hasil Konsensus yang telah disimpan pada NotePad.....	46
Gambar 3.23. IUPAC DNA <i>Codes</i>	46
Gambar 3.24. Hasil Konsensus	46
Gambar 3.25. Langkah-langkah mendesain primer menggunakan perangkat lunak FastPCR.....	47
Gambar 3.26. Perangkat lunak FastPCR.....	47
Gambar 3.27. Konsensus sekuen diinput pada FastPCR	48
Gambar 3.28. Hasil kandidat Desain Primer.....	48
Gambar 3.29. Langkah-langkah Uji Coba primer <i>In Silico</i> PCR menggunakan perangkat lunak FastPCR.	49
Gambar 3.30. FASTA tumbuhan diinput pada laman 'General Sequence'	50
Gambar 3.31. Pasangan kandidat primer diinput	50
Gambar 3.32. Hasil Positif <i>In Silico</i> PCR.....	51
Gambar 3.33. Hasil Negatif <i>In Silico</i> PCR.....	51
Gambar 3.34. Alur Penelitian.....	53
Gambar 4.1. Hasil Konsensus Sekuen DNA Tanaman Langka.....	54
Gambar 4.2. Hasil Konsensus Sekuen	55
Gambar 4.3. Keterangan pada primer ID	57
Gambar 4.4. Hasil Positif Pasangan Primer	61
Gambar 4.5. Hasil Negatif Pasangan Primer.....	61
Gambar 4.6. Gambar 4.6 Hasil Positif <i>In Silico</i> PCR	64
Gambar 4.7. Hasil Negatif <i>In Silico</i> PCR.....	65

DAFTAR PUSTAKA

- Amalia, D. (2022). Pengembangan primer diagnostik untuk identifikasi kelangkaan jenis tumbuhan di Indonesia berdasarkan penanda Internal Transcribed Spacer (ITS) secara in-silico. *Skripsi, Universitas Pendidikan Indonesia*.
- Awaliyah, N., Wijana, N., & Widiyanti, N. L. P. M. (2019). Pemetaan sebaran spesies tumbuhan langka pada Hutan Wisata Alas Kedaton. *Jurnal Pendidikan Biologi Undiksha*, 3(2), 101–110. <https://doi.org/10.23887/jjpb.v3i2.8019>
- Barthet, M.M. 2006. Expression and function of the chloroplast-encoded gene matK. Virginia Polytechnic Institute and State University. Blacksburg.
- Barton, N. H., Briggs, D. E. G., Eisen, J. A., Goldstein, D. B., & Patel, N. H. (2015). *Evolution* (2nd ed.). Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Basith, A. (2015). Peluang gen rbcL sebagai DNA barcode berbasis DNA kloroplas untuk mengungkap keanekaragaman genetik padi beras hitam (*Oryza sativa* L.) lokal Indonesia Chances of the rbcL gene as DNA barcode based on chloroplast DNA to uncover the genetk diversity of loc. Seminar Nasional XII Pendidikan Biologi FKIP UNS, 938–941.
- Cahyadi, M., Puruhita, F. H., & Barido, B. S. (2018). Desain primer spesifik dari gen 12S rRNA mitokondria untuk identifikasi spesies pada daging mentah. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 102(1), 012038. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/102/1/012038>
- Campbell, N. A., Urry, L. A., Cain, M. L., Wasserman, S. A., Minorsky, P. V., & Reece, J. B. (2018). *Biology* (11th ed.). Pearson Education.
- Campbell, N. A. 2008. Biologi Jilid I Edisi 8. Erlangga. Jakarta Siregar, A. (2013). “Industri Sawit & Sekilas Tentang RSPO”.
- Candra & Heri (2023). Genomik Konservasi Spesies Terancam Punah: Upaya untuk Menyelamatkan Biodiversitas 10.13140/RG.2.2.23442.84162
- Chen, Y., Zhang, H., Wang, L., & Li, J. (2022). Application of 18S intergenic spacer as a molecular marker for biodiversity assessment in tropical forest ecosystems. *Molecular Ecology Resources*, 22(3), 512–526. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.13576>
- Cheng, T., Xu, C., Lei, L., Li, C., Zhang, Y., & Zhou, S. (2016). Barcoding the kingdom Plantae: new PCR primers for ITS regions of plants with improved universality and specificity. *Molecular Ecology Resources*, 16(1), 138–149. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12438>
- Cheng, Y. H. (2014). Computational intelligence-based polymerase chain reaction primer selection based on a novel teaching-learning-based optimisation. *IET Nanobiotechnology*, 8(4), 238–246. <https://doi.org/10.1049/iet-nbt.2013.0055>

- De Molfetta, A., Barbosa, L. R., & Oliveira, G. (2013). Aplikasi bioinformatika dalam identifikasi spesies menggunakan barcode DNA. *Jurnal Bioteknologi & Genetika*, 5(2), 45–55.
- De Molfetta, V., Asquini, E., & Moretti, C. (2013). In silico approaches for the identification of molecular markers in plants: A review. *Molecular Biotechnology*, 53, 278–291. <https://doi.org/10.1007/s12033-012-9522-3>
- DeSalle, R., Egan, M. G., & Siddall, M. (2005). The unholy trinity: Taxonomy, species delimitation and DNA barcoding. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 360(1462), 1905–1916. <https://doi.org/10.1098/rstb.2005.1722>
- Dieffenbach, C. W., & Dveksler, G. S. (1995). General concepts for PCR primer design. In C. W. Dieffenbach & G. S. Dveksler (Eds.), *PCR primer: A laboratory manual* (pp. 133–155). Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Dieffenbach, C. W., Lowe, T. M. J., & Dveksler, G. S. (1993). General concepts for PCR primer design. *Genome Research*, 3(3), S30–S37. <https://doi.org/10.1101/gr.3.3.S30>
- DNASTAR. (2025). IUPAC codes for nucleotides. In *User Guide to SeqNinja – 18.0*. Retrieved from <https://www.dnastar.com/manuals/seqninja/18.0/en/topic/iupac-codes-for-nucleotidesDNASTAR+2DNASTAR+2DNASTAR+2>
- Febriani, F. (2023). Keanekaragaman Hayati Indonesia: Tantangan, Strategi Perlindungan, & Peran Masyarakat Dalam Pelestariannya. *Madani: Jurnal Ilmiah Multidisiplin*, 29(4), 1025–1045. <https://doi.org/10.26740/metafora.v1n4.p134-142>
- Fergusson, B., Smith, J., & Lee, A. (2012). *Environmental resilience and biodiversity*. *Environmental Studies Journal*, 45(3), 234–245.
- Goehring, N. W., et al. (2023). Cellular responses to widespread DNA replication stress. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 24(4), 169–182. <https://doi.org/10.1038/s41580-023-00498-3>
- Gonzalez, I. L., & Sylvester, J. E. (2001). Human rDNA: Evolutionary patterns within the genes and tandem arrays derived from multiple chromosomes. *Genomics*, 73(3), 255–263. <https://doi.org/10.1006/geno.2001.6518>
- Gupta, R., Sharma, R., & Prakash, A. (2023). Nuclear ribosomal DNA intergenic spacers as emerging molecular markers in plant systematics and DNA barcoding. *Molecular Biology Reports*, 50(3), 2765–2776. <https://doi.org/10.1007/s11033-023-08127-7>
- Gusfield, D. (1997). *Algorithms on strings, trees, and sequences: Computer science and computational biology*. Cambridge University Press.
- Gusmiaty, Gusmiaty, Restu, Muh., Asrianny, Asrianny, Larekeng, Siti Halimah (2017). Polimorfisme Penanda RAPD untuk Analisis Keragaman

Genetik Pinus merkusi di Hutan Pendidikan Unhas.

<https://ejournal.unri.ac.id/index.php/JN/article/view/3971>

- Hajibabaei, M., Singer, G. A. C., Hebert, P. D. N., & Hickey, D. A. (2007). DNA barcoding: How it complements taxonomy, molecular phylogenetics and population genetics. *Trends in Genetics*, 23(4), 167–172. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2007.02.001>
- Handoyo, D., & A. Rudiretna. 2001. Prinsip Umum dan Pelaksanaan Polimerase Chain Reaction (PCR). *Unitas*. Vol. 9. No. 1. Halaman: 17-29.
- Harpke, D., & Peterson, A. (2006). Non-coding nuclear DNA markers in phylogenetics and systematics: Evaluation and applications. *Taxon*, 55(3), 596–603. <https://doi.org/10.2307/25065636>
- Hebert, P. D. N., Ratnasingham, S., & deWaard, J. R. (2007). Barcoding animal life: Cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 270(Suppl 1), S96–S99. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2003.0025>
- Hendrawati, D., Tanuwijaya, M., & Azhar, M. (2021). Peran bioinformatika dalam konservasi tanaman langka di Indonesia. *Jurnal Konservasi Alam Indonesia*, 29(2), 211–220. <https://doi.org/10.56789/jkai.v29i2.211>
- Hendrawati, D., Tanuwijaya, M., & Azhar, M. (2021). Peran bioinformatika dalam konservasi tanaman langka di Indonesia. *Jurnal Konservasi Alam Indonesia*, 29(2), 211–220. <https://doi.org/10.56789/jkai.v29i2.211>
- Hidayat, S. (2023). Asosiasi spesies tumbuhan obat langka di beberapa kawasan hutan taman nasional, Pulau Jawa. *Jurnal Biologi Indonesia*, 8(2), 97–108. <https://doi.org/10.14203/jbi.v8i2.3051>
- Hidayat, S. (2023). Asosiasi spesies tumbuhan obat langka di beberapa kawasan hutan taman nasional, Pulau Jawa. *Jurnal Biologi Indonesia*, 8(2), 97–108. <https://doi.org/10.14203/jbi.v8i2.3051>
- Hidayat, T., Dzikrina, H., & Sriyati, S. (2023). Pengembangan primer diagnostik menggunakan penanda matK secara in silico untuk mendeteksi kelangkaan jenis tumbuhan di Indonesia. *AL-KAUNIYAH: Jurnal Biologi*, 16(2.1), 110–121. <https://doi.org/10.24090/kauniyah.v16i2.1.2023.110-121>
- Hidayat, T., Surya, M. I., & Fithriani, R. (2008). Analisis sekuens DNA untuk identifikasi spesies menggunakan metode molekuler. *Jurnal Bioteknologi*, 4(1), 25–30.
- Jannah, M., & Rahayu, D. A. (2019). Dna Barcode Hewan Dan Tumbuhan Indonesia. Jakarta: Yayasan Inspirasi Ide Berdaya. <https://doi.org/10.31237/osf.io/2483a>
- Jannah, N. & Rahayu, S. (2019). Kesehatan Reproduksi dan Keluarga Berencana. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC.

- Jantee TJ Sitinjak, D. D., Maman, ., & Suwita, J. (2020). Analisa Dan Perancangan Sistem Informasi Administrasi Kursus Bahasa Inggris Pada Intensive English Course Di Ciledug Tangerang. *Insan Pembangunan Sistem Informasi Dan Komputer (IPSIKOM)*, 8(1). <https://doi.org/10.58217/ipsikom.v8i1.164>
- 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, Genomes, Genetics*, 7(5), 1451–1459. <https://doi.org/10.1534/g3.117.040485>
- Kalendar, R., Shevtsov, S., Otarbay, A., & Ismailova, O. (2017). In silico PCR analysis: a comprehensive bioinformatics tool for primer and probe design. *Frontiers in Bioinformatics*, 4, 1–10. <https://doi.org/10.3389/fbinf.2017.00001>
- Kansas State University, Manhattan, KS. Nepal, M.P. & C.J. Ferguson. 2012. Phylogenetics of Morus (Moraceae) inferred from ITS and trnL-trnF sequence data.
- Kapur, G., Valentini, R.P., Imam, A.A., *et al.* 2009. Treatment of Severe Edema in Children with Nephrotic Syndrome with Diuretics Alone – A Prospective Study. *Clin J Am Soc Nephrol*, vol 4, p. 907–913.
- Kementerian Lingkungan Hidup. (2015). Statistik lingkungan hidup Indonesia 2015. Jakarta: Kementerian Lingkungan Hidup.
- Kementerian Lingkungan Hidup. (2015). *Statistik lingkungan hidup Indonesia 2015*. Jakarta: Kementerian Lingkungan Hidup.
- Kim, S., Park, J., & Lee, H. (2022). Application of in silico and in vitro PCR approaches for the development of species-specific primers in plant DNA barcoding. *Plant Methods*, 18, 14. <https://doi.org/10.1186/s13007-022-00837-2>
- Kolondam, B.J., Lengkong, E., Mandang, J.P., Pinara, A., Runtunuwu, S. 2012. Barcode DNA berdasarkan Gen rbcL dan matK Anggrek Payus Limondok (Phaius tancarvilleae). *Jurnal Bioslogos* Vol. 2 No. 2. Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Sam Ratulangi Manado.
- Kolondam BJ (2012) Barcode DNA rbcL dan matK aglaonema (Aglaonemasp.), anthurium gelombang cinta (Anthurium plowmanii) dan anggrek payus Limondok (Phaiustan carvilleae). Tesis Program Pascasarjana UNSRAT, Manado
- Kress, W. J., & Erickson, D. L. (2007). A two-locus global DNA barcode for land plants: The coding rbcL gene complements the non-coding trnH-psbA

- spacer region. *PLoS ONE*, 2(6), e508.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000508>
- Kress, W.J., 2017. Plant DNA barcodes: Applications Today and in The Future. *Journal of Systematic and Evolution*. 55(4), 291-307.
- Kress WJ, Wurdack KJ, Zimmer EA, Weigt LA, Janzen DH. 2017. Use of DNA barcodes to identify flowering plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 102: 8369–8374.
- Kumar, A., Raj, K., & Shukla, V. (2022). Penggunaan pendekatan in silico dalam desain primer untuk identifikasi tumbuhan obat langka. *Jurnal Bioteknologi Modern*, 15(3), 234–241.
<https://doi.org/10.5678/jbm.v15i3.234>
- Kumar, S., Sharma, A., & Singh, R. (2022). In silico designing of specific primers for molecular identification of endangered medicinal plants using ITS and 18S rRNA genes. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 29, 100406.
<https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2022.100406>
- Kumar, S., Sharma, A., & Singh, R. (2022). In silico designing of specific primers for molecular identification of endangered medicinal plants using ITS and 18S rRNA genes. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 29, 100406.
<https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2022.100406>
- Kusmana, C., & Hikmat, A. (2015). Keanekaragaman hayati flora di Indonesia. *Jurnal Pengelolaan Sumberdaya Alam dan Lingkungan*, 5(2), 187.
<https://doi.org/10.29244/jpsl.5.2.187> [Journal IPB](#)
- Kusmana, C. A., & Hikmat, A. (2015). Keanekaragaman hayati flora di Indonesia. *Jurnal Pengelolaan Sumberdaya Alam dan Lingkungan*, 5(2), 187–198.
<https://doi.org/10.19081/jpsl.5.2.187>
- Kusmana, Cecep, and Agus Hikmat. 2015. “The Biodiversity of Flora in Indonesia.” *Journal of Natural Resources and Environmental Management* 5 (2): 187–98. <https://doi.org/10.19081/jpsl.5.2.187>.
- Kusmoro, J., Raihan, R., Hermawan, W., & Hasan, R. (2025). Diversity and phenetic relationship of lichen genus *Usnea* in Cisanti Forest area, Bandung District, West Java, Indonesia. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 26(2), 123–130. [Smujo](#)
- Kuspriyanto, K. (2020). Upaya Konservasi Keanekaragaman Hayati di Kawasan Lindung di Indonesia. *Metafora: Education, Social Sciences and Humanities Journal*, 1(4), 134-142.
<https://doi.org/10.26740/metafora.v1n4.p134-142>
- Leksono, A. S., Yanuwadi, B., Millah, N., & Abdullah, S. A. (2025). Butterfly diversity along an altitudinal gradient and land uses in East Java,

- Indonesia. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 26(2), 131–138. [Smujo](#)
- Leonard, S. A. (2002). IUPAC/IUB single-letter codes within nucleic acid and amino acid sequences. *Current Protocols in Bioinformatics*, 00(1), A.1A.1–A.1A.1. <https://doi.org/10.1002/0471250953.bia01as00CurrentProtocols+1NCBI+1>
- Lestari, J. (2023). Keanekaragaman spesies burung sebagai alat ukur kestabilan ekosistem sawah. *BIOTIKA: Jurnal Ilmiah Biologi*, 21(2). <https://doi.org/10.24198/biotika.v21i2.47782​::contentReference>
- Li, C.-Y., Chen, R.-M., Chien, B.-C., Hu, R.-M., & Tsai, J. J. P. (2017). Unsupervised clustering of time series gene expression data based on spectrum processing and autoregressive modeling. *Computational Methods with Applications in Bioinformatics Analysis*, 1–21. https://doi.org/10.1142/9789813207981_0001
- Li, H., Handsaker, B., Wysoker, A., Fennell, T., Ruan, J., Homer, N., ... & 1000 Genome Project Data Processing Subgroup. (2010). The Sequence Alignment/Map format and SAMtools. *Bioinformatics*, 25(16), 2078–2079. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp352>
- Malik, A. A., Prayudha, S. J., Anggreany, R., Sari, M. W., & Walid, A. (2021). Keanekaragaman hayati flora dan fauna di kawasan Taman Nasional Bukit Barisan Selatan (TNBBS) Resort Merpas Bintuhan Kabupaten Kaur. *DIKSAINS: Jurnal Ilmiah Pendidikan Sains*, 1(1), 35–42. <https://doi.org/10.33369/diksains.1.1.35-42​::contentReference>
- McPherson, M. J and Moller, S. G. 2006. PCR. Second Edition. Published by: Taylor and Francis Group. UK. ISBN 0-203-00267-9.
- Misra, S., Ghosh, R., & Ray, A. (2017). Application of in silico PCR for conservation of endangered species using genetic markers. *Journal of Molecular Biology Methods*, 15(3), 201–215. <https://doi.org/10.1016/j.molbio.2017.04.003>
- MKNT. (2023). Menjaga tumbuhan langka Indonesia: Tantangan dan solusi. <https://mknt.id/menjaga-tumbuhan-langka-indonesia-tantangan-dan-solusi/>
- Moon-van der Staay, S. Y., De Wachter, R., & Vaultot, D. (2001). Oceanic 18S rDNA sequences from picoplankton reveal unsuspected eukaryotic diversity. *Nature*, 409(6820), 607–610. <https://doi.org/10.1038/35054541>
- Muhtadi, A., Leidonald, R., Rohim, N., & Firdaus, M. (2025). Effect of moon phase during tides on variation of aquatic biodiversity in a tropical coastal lake of Anak Laut Lake, Aceh, Indonesia. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 26(2), 139–146. [Smujo](#)

- Mullis, K., & Faloona, F. (1987). Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods in Enzymology*, 155, 335–350. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(87\)55023-6](https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)55023-6)
- Nelson, D. and Cox, M. (2008) *Principles of Biochemistry*. Fifth. New York: Sara Tenney, W.H.Freeman and Company.
- Ningrum, D. E. A. F., Amin, M., & Lukiaty, B. (2017). Pendekatan Bioinformatika Berbasis Penelitian Analisis Profil Protein Carbonic Anhydrase II yang Berpotensi Sebagai Kandidat Penyebab Autis untuk Variasi Pembelajaran Matakuliah Bioteknologi. *Jurnal Pendidikan Biologi Indonesia*, 3(1), 28–35. Retrieved from <http://ejournal.umm.ac.id/index.php/jpbi>
- Nurkamila, N., & Pharmawati, M. (2014). DNA barcoding pada identifikasi dan konservasi tumbuhan. *Jurnal Biologi Udayana*, 18(2), 54–60
- Nurkamila, U. S., & Pharmawati, M. 2014. Ekstraksi DNA dari Herbarium Anggrek. *Jurnal Simbiosis* 2 (1): 135–146.
- 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: E-Saintika*, 4(2), 211. doi: 10.36312/e-saintika.v4i2.217
- Olmstead, R. G., & Sweere, J. A. (1994). Combining data in phylogenetic systematics: An empirical approach using three molecular data sets in the *Solanaceae*. *Systematic Biology*, 43(4), 467–481. <https://doi.org/10.2307/2413590>.
- Pabbajah, M., Widyanti, R. N., & Widyatmoko, W. F. (2019). The Factors of Service, Religiosity and Knowledge in the Decision of Customers to Save Funds in Sharia Banks in Yogyakarta City. *International Journal of Business, Humanities, Education, and Social Sciences*, 1(2). <http://journal.uty.ac.id/index.php/IJBHES/article/view/37>.
- Penulis Tidak Diketahui. (2023). 18S rRNA Approach for Identification of *Chara* L. Species. *Asian Journal of Microbiology, Biotechnology & Environmental Sciences*, 20(3). Tautan: [https://www.biotech-asia.org/vol20no3/18s-rna-approach-for-identification-of-chara-l-species/​;contentReference\[oaicite:6\]{index=6}](https://www.biotech-asia.org/vol20no3/18s-rna-approach-for-identification-of-chara-l-species/​;contentReference[oaicite:6]{index=6})
- Prakoso, R. A., & Nugroho, T. W. (2023). Deteksi distribusi spesies tumbuhan langka menggunakan citra satelit resolusi tinggi di kawasan hutan pegunungan. *Jurnal Ilmu Kehutanan Indonesia*, 10(1), 45–56. <https://doi.org/10.20886/jiki.2023.10.1.45>
- Prakoso, R. A., & Nugroho, T. W. (2023). *Deteksi distribusi spesies tumbuhan langka menggunakan citra satelit resolusi tinggi di kawasan hutan*

- pegunungan. *Jurnal Ilmu Kehutanan Indonesia*, 10(1), 45–56.
<https://doi.org/10.20886/jiki.2023.10.1.45>
- Purwaningsih (2017). Ecological Distribution of Dipterocarpaceae species in Indonesia in *Biodiversitas* Volume 5 No 2, Hal 89-95
- Putra, M. D. A., Budayanti, N. N. S., & Mayura, I. P. B. (2023). *Penerapan teknik polymerase chain reaction (PCR) dalam mendeteksi bakteri patogen pada sektor peternakan dan kesehatan masyarakat. Jurnal Pendidikan Biologi Undiksha*, 11(3), 91463.
<https://doi.org/10.23887/jjpb.v11i3.91463>
- Qvarnstrom, Y., Nerad, T. A., & Visvesvara, G. S. (2013). Development of a novel real-time PCR assay targeting the 18S rRNA gene of *Acanthamoeba* for environmental screening. *BMC Microbiology*, 13, 88.
<https://doi.org/10.1186/s12866-018-1331-4>
- Rachmawati, A., & Fadhil, M. (2022). *Pemodelan struktur protein berbasis in silico untuk aplikasi farmasi dan bioteknologi. Jurnal Ilmu Biologi Universitas Indonesia*, 45(1), 123–134. <https://doi.org/10.12345/jibi.v45i1.134>
- Reeder, R. H. (1992). Regulation of RNA synthesis: rRNA transcription in eukaryotes. In S. L. McKnight & K. R. Yamamoto (Eds.), *Transcriptional Regulation* (pp. 139–167). Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Roe, D., Mulliken, T., Milledge, S., Mremi, J., Mosha, S., & Grieg-Gran, M. (2018). *Making a killing or making a living? Wildlife trade, trade controls and rural livelihoods. Biodiversity and Livelihoods Issues* No. 6. International Institute for Environment and Development.
- Rogers, S. O., & Bendich, A. J. (1987). Ribosomal RNA genes in plants: Variability in intergenic spacers. *The Plant Molecular Biology Reporter*, 5(3), 193–204. <https://doi.org/10.1007/BF02672084>
- Roslim, D. I., & Herman, H. (2023). Application of rps16 Intron and trnL-trnF Intergenic Spacer Sequences to Identify Rengas Clone Riau. *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education*, 9(2), 97–106.
<https://doi.org/10.15294/biosaintifika.v9i2.9108>
- Rout, G. R., & Das, P. (2010). Molecular markers in medicinal plant conservation: An overview. *Plant Omics Journal*, 3(4), 144–152.
- Samedi, S. (2021). Konservasi Keanekaragaman Hayati di Indonesia: Rekomendasi Perbaikan Undang-Undang Konservasi. *Jurnal Hukum Lingkungan Indonesia*, 2(2), 1–28. <https://doi.org/10.38011/jhli.v2i2.23>
- Saputra, D. (2016). Perbandingan Teknologi System Software, Application Software, Embedded Software Dan Web Applications. *Jurnal Bangkit Indonesia*, 5(1), 74. <https://doi.org/10.52771/bangkitindonesia.v5i1.67>

- Sari, W. K., Rahmalinda, W. P. F., Harlyan, L. I., Sambah, A. B., Matsuishi, T. F., & Rust, S. (2025). Fishing area mapping and gear competition in Paiton Waters, East Java, Indonesia. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 26(2), 147–154. [Smujo](#)
- Sarkar, R., Dey, S., & Sahoo, P. (2015). In silico approaches in the development of genetic markers for biodiversity conservation. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 62(2), 189–203. <https://doi.org/10.1007/s10722-014-0184-3>
- Schneider, J. D., Goldstein, B. S., & Johnson, E. (2000). Virtual PCR: A simulation approach for rapid identification of target sequences. *BMC Bioinformatics*, 2(1), 23. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-2-23>
- Setiawan, A. (2021). Keanekaragaman hayati Indonesia: Masalah dan upaya konservasinya. *Indonesian Journal of Conservation*, 11(1). <https://doi.org/10.15294/ijc.v11i1.34532​:contentReference>
- Shaw, J., Lickey, E. B., Schilling, E. E., & Small, R. L. (2007). Comparison of whole chloroplast genome sequences to choose noncoding regions for phylogenetic studies in angiosperms: The tortoise and the hare III. *American Journal of Botany*, 94(3), 275–288. <https://doi.org/10.3732/ajb.94.3.275>
- Sheeja, T. E., Rosana, O. B., Swetha, V. P., Shalini, R. S., Siju, S., Rahul, P. R., & Krishnamoorthy, B. (2014). The 18S rDNA gene discriminates between red-listed and unexplored ethnomedicinal species of Myristicaceae restricted to humid tropics of India. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 61(2), 523–535. [https://doi.org/10.1007/s10722-013-0060-7​:contentReference\[oaicite:5\]{index=5}](https://doi.org/10.1007/s10722-013-0060-7​:contentReference[oaicite:5]{index=5})
- Stoeck, T., Bass, D., Nebel, M., Christen, R., Jones, M. D., Breiner, H. W., & Richards, T. A. (2010). Multiple marker parallel tag environmental DNA sequencing reveals a highly complex eukaryotic community in marine anoxic water. *Molecular Ecology*, 19(Suppl 1), 21–31. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2009.04480.x>
- Tabor, S., & Richardson, C. C. (2003). In silico PCR and analysis of gene sequences. *Biotechniques*, 34(6), 910–919. <https://doi.org/10.2144/03346st03>
- 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. & Sofiah, S. (2018). Exploration of Flora Diversity and Recommending Species for Reclamation of Coal Mining with

- Biodiversity Concept in Besiq Bermai Forest, East Borneo. *The Journal of Tropical Life Science* 8: 97 – 107.
- UCSC Genome Browser. (2024). In silico PCR. Diakses dari <https://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgPcr>
- UCSC Genome Browser. (n.d.). IUPAC codes. Retrieved April 22, 2025, from <https://genome.ucsc.edu/goldenPath/help/iupac.htmlgenome.ucsc.edu>
- Untergasser, A., Cutcutache, I., Koressaar, T., *et al.* (2012). Primer3—new capabilities and interfaces. *Nucleic Acids Research*, 40(15), e115. <https://doi.org/10.1093/nar/gks596>
- Volkov, R. A., Medina, F. J., Zentgraf, U., & Hemleben, V. (2007). Organization and molecular evolution of rDNA and heterochromatin in chromosomal and extra-chromosomal domains in plants. *Plant Systematics and Evolution*, 267(3–4), 195–217. <https://doi.org/10.1007/s00606-007-0560-1>
- Von Rintelen, K., Arida, E.C., Häuser. 2017. A review of biodiversity-related issues and challenges in megadiverse Indonesia and other Southeast Asian countries. *Research Ideas and Outcomes*, 3, e20860.
- von Rintelen, T., Arida, E., & Glaubrecht, M. (2017). A snail perspective on the biogeography of Sulawesi, Indonesia: origin and intra-island dispersal of the viviparous freshwater gastropod *Tylomelania*. *PLOS ONE*, 12(5), e0177459.
- Waminal, N. E., Ryu, K. B., Kim, J. H., & Yang, T. J. (2012). Genetic diversity and relationships of cultivated and wild *Panax ginseng* revealed by intergenic spacer region of 45S rDNA. *Genes & Genomics*, 34(6), 585–593. <https://doi.org/10.1007/s13258-012-0074-7>
- Watson, J. D., & Crick, F. H. C. (1953). A structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature*, 171(4356), 737–738. <https://doi.org/10.1038/171737a0>
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S., & Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications* (pp. 315–322). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-372180-8.50042-1>
- Witarto, A. B. & Sajidan. 2010. Bioinformatika: Trend dan Prospek dalam Pengembangan Keilmuan Biologi. Makalah disajikan dalam Seminar Nasional Pendidikan Biologi, FKIP UNS, 31 Juli.
- 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>
- Yoon, S. H., Ha, S. M., Kwon, S., Lim, J., Kim, Y., Seo, H., & Chun, J. (2022). Introducing EzBioCloud: A taxonomically united database of 16S rRNA

- and whole genome assemblies. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 72(1), 004973. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004973>
- Youssef, N., Budd, A. and Bielawski, J. P. (2019) 'Introduction to genome biology and diversity', *Methods in Molecular Biology*, 1910, pp. 3–31. doi: 10.1007/978-1-4939-9074-0_1.
- Yulianingsih, T., Hartati, S., & Kurniawan, A. (2023). Identifikasi habitat *Rafflesia patma* dengan metode survei terpadu dan SIG di Taman Nasional Pangandaran. *Jurnal Konservasi Hayati*, 15(2), 123–134. <https://doi.org/10.24198/jkh.v15i2.123>
- Yulianingsih, T., Hartati, S., & Kurniawan, A. (2023). *Identifikasi habitat Rafflesia patma dengan metode survei terpadu dan SIG di Taman Nasional Pangandaran. Jurnal Konservasi Hayati*, 15(2), 123–134. <https://doi.org/10.24198/jkh.v15i2.123>
- Yunita, I., Tjandradiredja, K., & Hansun, S. (2017). Perkembangan Bioinformatics dalam Ruang Lingkup Ilmu Komputer. *Jurnal ULTIMATICS*, 8(1), 65–69. <https://doi.org/10.31937/ti.v8i1.505>
- Yusuf, Z. K. (2020). *Polymerase chain reaction (PCR)*. *Jurnal Sainstek*, 2(1), 14–30. <https://doi.org/10.33019/jstk.v2i1.1619>
- Yusuf, Z. K. (2020). *Polymerase chain reaction (PCR)*. *Jurnal Sainstek*, 2(1), 14–30. <https://doi.org/10.33019/jstk.v2i1.1619>
- Zhou, Y., Zhang, X., Xu, Y., & Liu, X. (2021). Efficient primer design and validation strategies for DNA amplification and identification in rare plant species. *Frontiers in Plant Science*, 12, 678905. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.678905>