

**PENGEMBANGAN DIAGNOSTIK PRIMER SECARA *IN SILICO* UNTUK
DETEKSI KELANGKAAN JENIS TUMBUHAN DI INDONESIA
MENGUNAKAN PENANDA *RBCL***

SKRIPSI

diajukan untuk memenuhi sebagian dari syarat untuk memperoleh gelar Sarjana
Sains Program Studi Biologi



Oleh
Dennisa Ameria Sendjaya
1801517

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

2022

**PENGEMBANGAN DIAGNOSTIK PRIMER SECARA *IN SILICO* UNTUK
DETEKSI KELANGKAAN JENIS TUMBUHAN DI INDONESIA
MENGUNAKAN PENANDA *RBCL***

Oleh
Dennisa Ameria Sendjaya
1801517

Sebuah skripsi yang diajukan untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh
gelas Sarjana Sains pada Program Studi Biologi Departemen Pendidikan Biologi
Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

©Dennisa Ameria Sendjaya 2022
Universitas Pendidikan Indonesia
Juli 2022

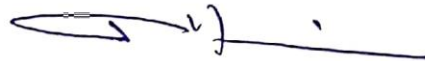
Hak cipta dilindungi undang-undang.
Skripsi ini tidak boleh diperbanyak seluruhnya atau sebagian, dengan dicetak
ulang, difotokopi, atau cara lainnya tanpa izin dari penulis.

LEMBAR PENGESAHAN
PENGEMBANGAN DIAGNOSTIK PRIMER SECARA *IN SILICO* UNTUK
DETEKSI KELANGKAAN JENIS TUMBUHAN DI INDONESIA
MENGGUNAKAN PENANDA *RBCL*

Dennisa Ameria Sendjaya
NIM. 1801517

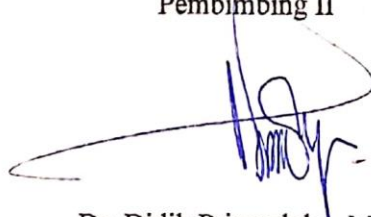
Disetujui dan disahkan oleh:

Pembimbing I



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

Pembimbing II



Dr. Didik Priyandoko, M.Si.
NIP. 196912012001121001

Mengetahui,
Ketua Program Studi Biologi



Dr. Hj. Diah Kusumawaty, M.Si.
NIP. 197008112001122001

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi dengan judul “Pengembangan Diagnostik Primer Secara *In Silico* untuk Deteksi Kelangkaan Jenis Tumbuhan di Indonesia Menggunakan Penanda *rbcL*” 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 klain dari pihak lain terhadap keaslian karya saya ini.

Bandung, Juli 2022
Yang membuat pernyataan,

Dennisa Ameria Sendjaya

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian serta skripsi yang berjudul “Pengembangan Diagnostik Primer Secara *In Silico* untuk Deteksi Kelangkaan Jenis Tumbuhan di Indonesia Menggunakan Penanda *rbcL*” dengan baik. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Sains pada Program Studi Biologi, Departemen Pendidikan Biologi, Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pendidikan Indonesia. Pelaksanaan penelitian dan penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari bimbingan, bantuan, dan dukungan dari berbagai pihak. Penulis mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada:

1. Bapak Prof. Topik Hidayat, M.Si., Ph.D. selaku Dosen Pembimbing I yang telah meluangkan banyak waktu dalam proses bimbingan, memberikan masukan, motivasi, dan semangat kepada penulis, baik selama kegiatan perkuliahan maupun selama pelaksanaan penelitian dan penyusunan skripsi ini.
2. Bapak Didik Priyandoko, M.Si. selaku Dosen Pembimbing II yang telah meluangkan waktu dalam memberikan bimbingan dan masukan kepada penulis sehingga skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik.
3. Bapak Dr. Bambang Supriatno, M.Si. selaku Ketua Departemen Pendidikan Biologi yang telah memberikan motivasi selama kegiatan perkuliahan.
4. Ibu Dr. Hj. Diah Kusumawaty, M.Si. selaku Ketua Program Studi Biologi yang telah memberikan arahan dan motivasi selama kegiatan perkuliahan.
5. Ibu Dr. Hj. Diah Kusumawaty, M.Si. bersama Ibu Dr. R. Kusdianti, M.Si. selaku Dosen Pembimbing Akademik kelas Biologi C 2018 yang selalu memberikan bimbingan, semangat, dan dukungan selama empat tahun perkuliahan.
6. Seluruh Dosen Departemen Pendidikan Biologi yang telah memberikan ilmu dan pengalaman yang berharga bagi penulis.
7. Seluruh Staf Tata Usaha dan Laboran Departemen Pendidikan Biologi yang telah memfasilitasi dan memberikan bimbingan serta arahan selama kegiatan perkuliahan.

8. Kedua orang tua penulis, Bapak Iwa Sendjaya dan Ibu Dedah Kurnia yang selalu mendoakan dan memberikan dukungan serta semangat sehingga penulis dapat menyelesaikan studi dan penelitian skripsi ini.
9. Rekan penelitian, yaitu Dea Amalia dan Hanina Dzikrina yang selalu memberikan semangat, bantuan, dan doa sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
10. Teman-teman penulis, yaitu Hilma Adila Indriani, Shafira Amalia Sukmawati, Siti Athiyah Nadiana, dan Talitha Dier Aliyya Rahman yang telah memberikan dukungan dan semangat selama perkuliahan hingga menyelesaikan skripsi ini.
11. Teman-teman Biologi C 2018 yang telah berjuang bersama selama empat tahun perkuliahan.

Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, penulis memohon maaf atas segala kekurangan dan berharap pembaca dapat memberikan kritik dan saran yang membangun untuk penyempurnaan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat memberikan pengetahuan dan manfaat bagi pembaca dan penulis.

Bandung, Juni 2021

Penulis

Dennisa Ameria Sendjaya

**PENGEMBANGAN DIAGNOSTIK PRIMER SECARA *IN SILICO* UNTUK
DETEKSI KELANGKAAN JENIS TUMBUHAN DI INDONESIA
MENGUNAKAN PENANDA *RBCL***

ABSTRAK

Indonesia merupakan negara dengan tingkat keanekaragaman tumbuhan yang tinggi (*mega biodiversity*). Tetapi, setiap tahunnya tumbuhan di Indonesia mulai mengalami kelangkaan dan terancam punah. Menurunnya jumlah spesies tumbuhan langka disebabkan oleh beberapa faktor seperti hilangnya habitat dan terjadi ketidakstabilan genom pada tumbuhan langka sehingga tumbuhan tersebut tidak mampu beradaptasi dengan lingkungannya. Tumbuhan langka di Indonesia masih banyak yang belum teridentifikasi, sehingga diperlukan suatu teknik untuk mengidentifikasi dan menentukan status kelangkaan tumbuhan secara cepat. Salah satu teknik identifikasi spesies yang dapat dilakukan secara cepat adalah analisis DNA *Barcode*. Tujuan penelitian ini untuk mendapatkan primer deteksi kelangkaan tumbuhan menggunakan penanda *rbcL* dengan analisis DNA *Barcode*. Penelitian ini dilakukan secara *in silico*, menggunakan data sekunder berupa 50 sekuen DNA tumbuhan langka berdasarkan penanda *rbcL* dari *Genbank* NCBI. Selanjutnya membuat fasta format, pensejajaran sekuen, perolehan sekuen konsensus, desain primer, dan uji coba primer dengan *in silico* PCR terhadap seluruh sampel tumbuhan langka. Penelitian ini berhasil mendapatkan sepasang primer tumbuhan langka berdasarkan penanda *rbcL*, yaitu F1_174-196 (*forward*) dan R2_656-678 (*reverse*). Berdasarkan hasil uji coba, dapat diketahui bahwa sepasang primer tersebut dapat mengamplifikasi spesies tumbuhan langka dengan persentase keberhasilan sebesar 78%. Primer ini nantinya dapat digunakan untuk mengetahui status kelangkaan tumbuhan dengan cepat dan menjadi salah satu upaya dalam konservasi tumbuhan langka yang terancam punah di Indonesia.

Kata kunci: DNA *Barcode*, Desain primer, Tumbuhan langka, *rbcL*

DEVELOPMENT OF PRIMER DIAGNOSTICS USING IN SILICO FOR THE DETECTION OF RARE PLANT IN INDONESIA USING RBCL MARKERS

ABSTRACT

Indonesia is a country with a high level of plant diversity (mega biodiversity). However, every year plants in Indonesia begin to experience scarcity and are threatened with extinction. The decline in the number of rare plant species is caused by several factors such as habitat loss and genomic instability in rare plants so that these plants are unable to adapt to their environment. There are still many rare plants in Indonesia that have not been identified, so a technique is needed to quickly identify and determine the status of plant scarcity. One of the species identification techniques that can be done quickly is DNA barcode analysis. The purpose of this study was to obtain primers for the detection of plant scarcity using the rbcL marker with DNA Barcode analysis. This research was conducted in silico, using secondary data in the form of 50 rare plant DNA sequences based on the rbcL marker from the NCBI Genbank. Then, make fasta format, sequence alignment, consensus sequence acquisition, primer design, and primer trials with in silico PCR on all samples of rare plants. This study succeeded in obtaining a pair of rare plant primers based on the rbcL marker, namely F1_174-196 (forward) and R2_656-678 (reverse). Based on the experimental results, it can be seen that the pair of primers can amplify rare plant species with a success percentage of 78%. This primer can later be used to quickly determine the status of plant scarcity and become one of the efforts in the conservation of endangered plants in Indonesia.

Keywords: DNA Barcode, Primer design, Endangered plants, rbcL

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	v
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Pertanyaan Penelitian	4
1.4 Batasan Masalah.....	4
1.5 Tujuan Penelitian.....	5
1.6 Manfaat Penelitian.....	5
1.7 Struktur Organisasi Skripsi	5
BAB II PENGEMBANGAN PRIMER <i>RBCL</i> UNTUK DETEKSI KELANGKAAN JENIS TUMBUHAN DI INDONESIA SECARA <i>IN SILICO</i>	7
2.1 Biodiversitas Indonesia	7
2.1.1 Tingkatan Keanekaragaman Hayati	9
2.2 Tumbuhan Langka dan Status Kelangkaan	10
2.2.1 Kriteria Tumbuhan Langka Secara Fisiologi	12
2.2.2 Kriteria Tumbuhan Langka Secara Molekuler (<i>Genome Instability</i>).....	13
2.3 Studi <i>In Silico</i>	14
2.3.1 Bioinformatika.....	15
2.3.2 DNA <i>Barcode</i> dan Analisisnya.....	16
2.4 Genom Kloroplas	19
2.4.1 Penanda <i>rbcL</i>	20
2.5 <i>In Silico</i> PCR	21
2.5.1 Primer PCR.....	22

BAB III METODE PENELITIAN	25
3.1 Jenis Penelitian	25
3.2 Waktu dan Tempat	25
3.3 Alat dan Bahan	25
3.4 Prosedur Penelitian	26
3.4.1 Pengambilan Data.....	26
3.4.2 Pensejajaran Sekuen DNA (<i>Sequence Alignment</i>)	31
3.4.3 Membuat Konsenses Sekuen DNA	32
3.4.4 Desain Primer	33
3.4.5 Uji Coba <i>In Silico</i> PCR	34
3.4.6 Analisis Data	35
3.5 Alur Penelitian.....	36
BAB IV TEMUAN DAN PEMBAHASAN	37
4.1 Temuan	37
4.1.1 Kandidat Primer Tumbuhan Langka	37
4.1.2 Uji Coba Kandidat Primer dengan <i>In Silico</i> PCR	40
4.1.3 Uji Efektivitas Primer dengan <i>In Silico</i> PCR	46
4.2 Pembahasan	49
4.2.1 Pasangan Primer Tumbuhan Langka.....	49
4.2.2 Skrining Hasil Uji Coba <i>In Silico</i> PCR	51
4.2.3 Efektivitas Primer Tumbuhan Langka.....	53
BAB V SIMPULAN, IMPLIKASI, DAN REKOMENDASI	55
5.1 Simpulan.....	55
5.2 Implikasi.....	55
5.3 Rekomendasi	53
DAFTAR PUSTAKA	57
LAMPIRAN.....	64

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1.1 Perbandingan kekayaan spesies dan spesies endemik tumbuhan di tujuh wilayah.....	8
2.1 Primer <i>rbcL</i> dalam analisis dna <i>barcode</i>	23
3.1 Alat yang digunakan dalam penelitian.....	25
3.2 Bahan yang digunakan dalam penelitian.....	25
3.3 Data sekunder sekuen dna tumbuhan langka berdasarkan penanda <i>rbcL</i>	26
4.1 <i>Single letter code</i> atau kode IUPAC.....	38
4.2 Kandidat primer <i>forward</i> beserta kriterianya.....	40
4.3 Kandidat primer <i>reverse</i> beserta kriterianya.....	40
4.4 Uji coba primer <i>forward</i> terhadap sampel dengan hasil positif tertinggi.....	41
4.5 Uji coba primer <i>reverse</i> terhadap sampel dengan hasil positif tertinggi.....	42
4.6 Uji coba primer pasangan (<i>forward</i> dan <i>reverse</i>) hasil desain primer.....	42
4.7 Kandidat pasangan primer tumbuhan langka berdasarkan penanda <i>rbcL</i>	44
4.8 Pasangan primer dengan persentase keberhasilan amplifikasi terendah (0%).....	45
4.9 Pasangan primer tumbuhan langka berdasarkan penanda <i>rbcL</i> ..	46
4.10 Sampel tumbuhan langka uji efektivitas.....	47
4.11 Uji efektivitas pasangan primer terhadap sepuluh spesies tumbuhan langka.....	49
4.12 Uji efektivitas pasangan primer terhadap sepuluh spesies tumbuhan <i>non</i> langka.....	49
5.1 Kandidat primer <i>forward</i> dan <i>reverse</i>	64
5.2 Hasil <i>in silico</i> PCR kandidat primer <i>forward</i> dan <i>reverse</i> terhadap sampel urutan 1-10.....	67
5.3 Hasil <i>in silico</i> PCR kandidat primer <i>forward</i> dan <i>reverse</i> terhadap sampel urutan 11-20.....	68

5.4	Hasil <i>in silico</i> PCR kandidat primer <i>forward</i> dan <i>reverse</i> terhadap sampel urutan 21-30	69
5.5	Hasil <i>in silico</i> PCR kandidat primer <i>forward</i> dan <i>reverse</i> terhadap sampel urutan 31-40	70
5.6	Hasil <i>in silico</i> PCR kandidat primer <i>forward</i> dan <i>reverse</i> terhadap sampel urutan 41-50	71
5.7	Hasil uji coba pasangan primer terhadap sampel urutan 1-10	72
5.8	Hasil uji coba pasangan primer terhadap sampel urutan 11-20 ..	73
5.9	Hasil uji coba pasangan primer terhadap sampel urutan 21-30 ..	74
5.10	Hasil uji coba pasangan primer terhadap sampel urutan 31-40 ..	75
5.11	Hasil uji coba pasangan primer terhadap sampel urutan 41-50...	76
5.12	Dokumentasi sampel tumbuhan langka.....	77

DAFTAR GAMBAR

Gambar		Halaman
2.1	Indonesia sebagai salah satu negara mega biodiversitas	8
2.2	Alur konservasi keanekaragaman hayati	9
2.3	Diagram tingkatan status kelangkaan menurut IUCN <i>Red List</i>	11
2.4	Sumber DNA <i>barcode</i> pada tumbuhan	17
2.5	Genom kloroplas	20
2.6	Panjang gen <i>rbcL</i>	20
2.7	<i>Tab</i> pada aplikasi FastPCR	22
2.8	Penempelan primer <i>forward</i> dan <i>reverse</i> pada DNA templat	23
3.1	Laman situs NCBI	28
3.2	Hasil pencarian data salah satu tumbuhan langka berdasarkan penanda <i>rbcL</i>	28
3.3	Informasi data salah satu tumbuhan langka berdasarkan penanda <i>rbcL</i>	29
3.4	Contoh data sekuen salah satu tumbuhan langka berdasarkan penanda <i>rbcL</i>	29
3.5	Penyusunan sekuen DNA pada aplikasi Notepad	30
3.6	Laman IUCN <i>Red List</i> untuk mengetahui status kelangkaan tumbuhan	30
3.7	Hasil proses <i>alignment</i> pada program ClustalX	31
3.8	Laman program BioEdit	32
3.9	Hasil pembuatan konsensus sekuen pada program BioEdit ...	33
3.10	Hasil desain primer pada program FastPCR	33
3.11	Proses pemasukan sekuen sampel dan salah satu primer dalam proses uji coba <i>in silico</i> PCR	34
3.12	Hasil positif dan negatif uji coba <i>in silico</i> PCR	34
3.13	Hasil <i>in silico</i> PCR menggunakan kandidat pasangan primer	35
3.14	Bagan alur penelitian	36
4.1	Hasil sekuen konsensus tumbuhan langka berdasarkan penanda <i>rbcL</i>	37

4.2	Hasil desain primer berupa primer <i>forward</i> dan <i>reverse</i> menggunakan aplikasi FastPCR.....	39
4.3	Keterangan primer ID	39
4.4	Informasi hasil uji coba primer (+) dengan <i>in silico</i> PCR.....	41
4.5	Perhitungan persentase keberhasilan	41
4.6	Informasi hasil uji coba pasangan primer (+) dengan <i>in silico</i> PCR.....	43
4.7	Perhitungan persentase keberhasilan amplifikasi	43
4.8	Hasil uji coba pasangan primer (-) dengan <i>in silico</i> PCR yang tidak memenuhi syarat.....	44
4.19	Proses uji efektivitas primer tumbuhan langka dengan <i>in silico</i> PCR.....	48

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran		Halaman
1.	Kandidat primer <i>forward</i> dan <i>reverse</i> hasil desain primer menggunakan aplikasi FastPCR.....	62
2.	Hasil uji coba kandidat primer <i>forward</i> dan <i>reverse</i> terhadap sampel tumbuhan langka berdasarkan penanda <i>rbcL</i> dengan <i>in silico</i> PCR.....	65
3.	Hasil uji coba kandidat pasangan primer tumbuhan langka berdasarkan penanda <i>rbcL</i> dengan <i>in silico</i> PCR.....	70
4.	Dokumentasi 50 sampel penelitian tumbuhan langka.....	77