

Penentuan Sekuens Terbaik untuk Gen COI pada *Crocodylus rhombifer* Menggunakan *SoftWare Perlprimer* dan *Primer Blast* Sebagai Bentuk Praktikum Saat Pandemi Covid-19

Nurizza Salsabila¹, Fadilah¹, Reynaldi Candro Permana¹, Safira Muti'atul K. A¹, Ahmad Alfin Romzalis¹, Dwi Nova Ramadhani¹, Yuanita Rachmawati^{1,2}
Okta Fina Arianti¹

¹Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Sunan Ampel Surabaya

²Pendidikan IPA, Fakultas Tarbiyah dan Keguruan, UIN Sunan Ampel Surabaya

*Email: finaarianti6@gmail.com

ARTICLE INFO

ABSTRACT

Keywords:

Primer, PCR, Perl primer, *Primer Blast* NCBI.

Pandemi Covid-19 telah dirasakan di sektor pendidikan sehingga harus dilaksanakan program pembelajaran secara daring. Hal ini tentunya menjadi sangat tidak mudah untuk dilakukan, khususnya para mahasiswa dituntut untuk tetap melakukan praktikum selama Pandemi Covid-19 demi terlaksananya tujuan pembelajaran. Praktikum merupakan salah satu kegiatan yang sangat penting, mengingat praktikum dapat menunjang pemahaman para mahasiswa terhadap materi yang telah disampaikan. Dalam kondisi seperti ini, mata kuliah Biologi Molekular mengadakan praktikum secara daring yang dapat dikerjakan oleh mahasiswa berupa desain primer. Primer merupakan oligonukleotida atau polimer nukleotida pendek berupa DNA atau RNA yang sangat penting pada proses PCR (Polymerase Chain Reaction). Langkah awal dari berhasilnya sekuensing DNA suatu gen adalah desain primer yang baik. Gen yang digunakan yakni gen COI *Crocodylus rhombifer* dan DNA targetnya yakni buaya kuba (*Crocodylus rhombifer*). Rujukan untuk menentukan desain primer juga perlu pada suatu penelitian terutama bio molekuler. Aplikasi yang digunakan sebagai penentuan primer dan informasi bio molekuler untuk mengetahui data gen yakni Perl primer dan NCBI. Tujuan dari penelitian ini adalah menentukan software yang digunakan sebagai rujukan desain primer suatu gen. Hasil amplifikasi yang didapatkan yakni bp dari perl primer yakni 20 bp dari 11 forward dan untuk *primer blast* NCBI juga mendapatkan 20 bp dari 10 forward.

PENDAHULUAN

Pembelajaran Sains atau Ilmu Pengetahuan Alam bukan hanya kumpulan pengetahuan yang berupa fakta-fakta, konsep-konsep, atau prinsi-prinsip tetapi juga melakukan suatu proses penemuan atau penyelidikan ilmiah untuk menumbuhkan kemampuan dalam berfikir, bersikap, dan juga bertindak ilmiah. Dalam melakukan penyelidikan ilmiah di perguruan tinggi, tentu saja tidak terlepas dari kegiatan praktikum. Mestipun dalam keadaan saat ini seperti adanya *pandemic Covid-19* jika dalam keadaan yang memungkinkan kegiatan praktikum harus tetap dilakukan supaya mahasiswa mendapatkan kesempatan untuk menguji, mengaplikasikan, dan mempraktikkan teori yang telah didapatkan saat perkuliahan di matakuliah tertentu tetapi harus tetap untuk mentaati protokol kesehatan (Widiatri, 2016)

Menurut Ali (2017) praktikum adalah suatu bentuk dalam pengajaran yang membelajarkan keterampilan, sikap, dan pemahaman. Secara keseluruhan praktikum memberikan kesempatan pada mahasiswa dalam menerapkan dan mengintegrasikan pengetahuan serta keterampilan yang dimiliki oleh seorang mahasiswa secara nyata dalam praktek, dengan melakukan praktikum mahasiswa dapat membuktikan sesuatu secara ilmiah, dan menghargai ilmu yang telah dimiliki. Praktikum memberikan kesempatan untuk mahasiswa dalam membuktikan suatu teori, mengelucidasi teori, dan juga menemukan teori. Dalam hal ini praktikan melakukan sebuah praktikum mata kuliah biomolekular untuk menentukan sekuens terbaik pada gen COI *Crocodylus rhombifer*.

Biologi molekuler merupakan ilmu pengetahuan yang mempelajari aktivitas biologi pada tingkat molekular. Disiplin ilmu ini merupakan penggabungan dari beberapa ilmu pengetahuan seperti biologi sel, genetika, dan biokimia (Wahyudi, 2015). Perkembangan ilmu biologi molekuler dan teknologi molekuler hingga saat ini telah mengalami perkembangan yang cukup pesat. Banyak teknik berbasis

molekuler yang digunakan di seluruh dunia, misalnya saja PCR, *tissue microarray*, *different blots*, *flow cytometry*, dan teknik analisis lainnya (Sasmito dkk, 2014).

Teknik analisis PCR (*Polymerase Chain Reactin*) merupakan teknik yang paling umum digunakan di dunia. Teknik ini biasa digunakan untuk deteksi penyakit, komputasi DNA, diagnosis penyakit maupun analisis spesifik lainnya. PCR (*Polymerase Chain Reactin*) merupakan suatu metode in vitro untuk menghasilkan sejumlah besar fragmen DNA spesifik dengan panjang dan sekuens yang telah ditentukan dari sebagian kecil templete kompleks. PCR didasarkan pada amplifikasi enzimatik fragmen DNA dengan menggunakan dua oligonukleotida primer yang komplementer dengan ujung 5 dari kedua rantai sekuens target. Oligonukleotida tersebut digunakan sebagai primer untuk memungkinkan DNA template dikopi oleh DNA polimerase (Anggereini, 2008).

Keberhasilan proses PCR salah satunya ditentukan oleh primer yang digunakan, oleh karenanya diperlukan kriteria tertentu yang harus dipenuhi untuk memperoleh desain primer terbaik (Sasmitha dkk, 2018). Primer merupakan molekul lignonukleotida untai tunggal yang terdiri dari sekitar 30 basa dan memiliki peran penting dalam proses PCR (Sasmito dkk, 2014). Untuk menganalisis desain primer terbaik, praktikum kali ini menggunakan buaya kuba (*Crocodylus rhombifer*) sebagai DNA target. Sekuens primer terbaik untuk Gen COI pada buaya kuba (*Crocodylus rhombifer*) menggunakan perl primer dan NCBI (*National Centre for Biotechnology Information*). Perl primer merupakan program *software* yang digunakan untuk menentukan primer dengan memasukkan urutan basa baik primer forward maupun primer reverse (Maksum dkk, 2013). Sedangkan NCBI (*National Centre for Biotechnology Information*) merupakan salah satu institusi yang menjadi rujukan atau sumber informasi perkembangan biologi molekuler

serta merupakan bank data gen (Utami dkk, 2014).

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Seperangkat komputer dengan software gratis/ freeware untuk desain primer yaitu *software PerlPrimer v1.1.21* untuk microsoft windows 3.2Mb koneksi internet ke database NCBI (online).

Desain Primer Software PerlPrimer

Desain primer dilakukan dengan mengacu pada gen COI *Crocodylus rhombifer* dari GenBank: MH273687.1 database NCBI (The National Center for Biotechnology Information). Untuk mendesain primer, dilakukan dengan menggunakan software PerlPrimer v1.1.21 untuk microsoft windows 3.2Mb dengan cara mendownload fasta pada gen COI *Crocodylus rhombifer* yang dipilih pada database NCBI (The National Center for Biotechnology Information), setelah itu memasukkan sequence berupa fasta yang telah di download. Selanjutnya, klik find

inwards, lalu beberapa kandidat pasangan primer akan muncul pada halaman software tersebut. Setelah itu, dilakukan analisis untuk memilih kandidat pasangan primer yang terbaik dan memenuhi kriteria desain primer.

Desain Primer NCBI (Primer-Blast)

Untuk perbandingan desain primer yang dilakukan di software PerlPrimer v1.1.21, akan dilakukan di database NCBI (The National Center for Biotechnology Information) yang terletak pada fitur *Primer-BLAST*. Dengan menggebetkan situs tersebut, sekuens kandidat primer akan dibandingkan dengan kumpulan database sekuens dari beberapa organisme pada NCBI. Kesamaan antara primer dan gen pada organisme tertentu akan ditunjukkan dalam identitas presentase. Semakin tinggi nilai presentase maka akan semakin banyak primer spesifik pada gen. Jika terdapat primer yang dapat mengenali gen selain gen COI dengan spesifisitas yang tinggi, maka tidak akan bisa memilih primer tersebut.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Desain Primer Menggunakan Software PerlPrimer

| Forward Primer | Pos | Len | Tm | Reverse Primer | Pos | Len | Tm | Amp | Ext. dimer dG | Full dimer dG |
|----------------------|-----|-----|-------|-----------------------|-----|-----|-------|-----|---------------|---------------|
| CTATATTACTACTGACCGA | 369 | 20 | 53.57 | TTGGTATAGGATTGGGTCTC | 645 | 20 | 56.16 | 76 | 0 | -1.30 |
| ACTGACCGAAACTTGAACAC | 580 | 20 | 58.81 | GTTGGTATAGGATTGGGTCTC | 647 | 20 | 56.77 | 67 | 0 | -2.02 |
| ACTGACCGAAACTTGAACAC | 580 | 20 | 58.81 | GTTGGTATAGGATTGGGTCTC | 646 | 21 | 57.72 | 66 | 0 | -2.02 |
| ACTGACCGAAACTTGAACAC | 580 | 20 | 58.81 | TTGGTATAGGATTGGGTCTC | 645 | 20 | 56.16 | 65 | 0 | -2.02 |
| TGAACACCACTTCTTCGAC | 593 | 20 | 58.52 | GTTGGTATAGGATTGGGTCTC | 646 | 21 | 57.72 | 53 | 0 | -2.16 |
| TGAACACCACTTCTTCGAC | 593 | 20 | 58.52 | TTGGTATAGGATTGGGTCTC | 645 | 20 | 56.16 | 52 | 0 | -2.16 |
| ACTGACCGAAACTTGAACAC | 580 | 20 | 58.81 | AAGGTGTTGGTATAGGATTGG | 652 | 22 | 58.26 | 72 | 0 | -2.60 |
| ACTGACCGAAACTTGAACAC | 580 | 20 | 58.81 | AAGGTGTTGGTATAGGATTGG | 651 | 21 | 57.54 | 71 | 0 | -2.60 |
| ACTGACCGAAACTTGAACAC | 580 | 20 | 58.81 | AGGTGTTGGTATAGGATTGG | 650 | 20 | 56.76 | 70 | 0 | -2.60 |
| TGAACACCACTTCTTCGAC | 593 | 20 | 58.52 | AAGGTGTTGGTATAGGATTGG | 652 | 22 | 58.26 | 59 | 0 | -2.93 |
| ACTGACCGAAACTTGAACAC | 580 | 20 | 58.81 | GTGTTGGTATAGGATTGGT | 648 | 20 | 57.06 | 68 | 0 | -3.32 |

Gambar 1. Rekomendasi Hasil Desain Primer dengan Bantuan Software PerlPrimer

Praktikum desain primer kali ini dapat dijadikan sebagai *alternative* dalam praktikum biologi molekular selama *pandemic covid-19*. Ada beberapa aspek

ganda primer dan *template* (Sasmitha dkk, 2018). Selanjutnya, hasil pada primer *Forward-Forward* memiliki *runs* sebanyak 2 kali pengulangan dan pada primer *Forward-Reverse* sebanyak 3 kali pengulangan (Gambar 2). Pengulangan lebih dari 4 kali pada *Runs* dan *Repeats* akan mengakibatkan *false priming* pada primer diluar suhu *annealing* sehingga akan terjadi kesalahan pembentukan

produk. (Sasmitha dkk, 2018). Gambar diatas adalah pasangan primer nomer 1. Pada pasangan primer nomer 1 memiliki primer *forward* : 5' CTATATTACTCACTGACCGA 3' dengan primer *reserve* : 5' CTATATTACTCACTGACCGA 3' memenuhi kriteria desain primer yang baik dan ideal karena memiliki panjang 20 bp.

Desain Primer Menggunakan Situs NCBI

— Detailed primer reports

| Primer pair 1 | | | | | | | | | |
|----------------|-----------------------|-----------------|--------|-------|------|-------|-------|----------------------|-------------------------|
| | Sequence (5'→3') | Template strand | Length | Start | Stop | Tm | GC% | Self complementarity | Self 3' complementarity |
| Forward primer | CCTTCACCTTGCCTGGAGTGT | Plus | 20 | 397 | 416 | 59.89 | 55.00 | 4.00 | 1.00 |
| Reverse primer | TTTGACATTGCTGGGGGTT | Minus | 20 | 484 | 465 | 60.11 | 50.00 | 5.00 | 0.00 |
| Product length | 88 | | | | | | | | |
| Primer pair 2 | | | | | | | | | |
| | Sequence (5'→3') | Template strand | Length | Start | Stop | Tm | GC% | Self complementarity | Self 3' complementarity |
| Forward primer | AGCACCCGACATAGCATTCC | Plus | 20 | 214 | 233 | 60.18 | 55.00 | 2.00 | 1.00 |
| Reverse primer | AAGGGCGCTTTGTTGTGTG | Minus | 20 | 499 | 480 | 59.83 | 50.00 | 2.00 | 0.00 |
| Product length | 286 | | | | | | | | |
| Primer pair 3 | | | | | | | | | |
| | Sequence (5'→3') | Template strand | Length | Start | Stop | Tm | GC% | Self complementarity | Self 3' complementarity |
| Forward primer | GGAGCACCCGACATAGCATT | Plus | 20 | 212 | 231 | 60.18 | 55.00 | 4.00 | 1.00 |
| Reverse primer | GGCGGAAAAAGGAGTAGGG | Minus | 20 | 298 | 279 | 59.82 | 60.00 | 2.00 | 0.00 |
| Product length | 87 | | | | | | | | |
| Primer pair 4 | | | | | | | | | |
| | Sequence (5'→3') | Template strand | Length | Start | Stop | Tm | GC% | Self complementarity | Self 3' complementarity |
| Forward primer | CCGGAATAGTAGGCACAGCC | Plus | 20 | 27 | 46 | 60.25 | 60.00 | 4.00 | 3.00 |
| Reverse primer | GCTATGTGGGTGCTCCAAT | Minus | 20 | 228 | 209 | 60.18 | 55.00 | 4.00 | 2.00 |
| Product length | 202 | | | | | | | | |
| Primer pair 5 | | | | | | | | | |
| | Sequence (5'→3') | Template strand | Length | Start | Stop | Tm | GC% | Self complementarity | Self 3' complementarity |
| Forward primer | CCTGAGCCGGAATAGTAGGC | Plus | 20 | 21 | 40 | 59.68 | 60.00 | 4.00 | 2.00 |
| Reverse primer | TGGAGGGGAATGCTATGTGCG | Minus | 20 | 239 | 220 | 60.25 | 55.00 | 3.00 | 2.00 |
| Product length | 219 | | | | | | | | |
| Primer pair 6 | | | | | | | | | |
| | Sequence (5'→3') | Template strand | Length | Start | Stop | Tm | GC% | Self complementarity | Self 3' complementarity |
| Forward primer | CGACATAGCATTCCCTCGCA | Plus | 20 | 220 | 239 | 60.25 | 55.00 | 3.00 | 0.00 |
| Reverse primer | GGATGACTCCAGCAAGGT | Minus | 20 | 421 | 402 | 59.67 | 55.00 | 5.00 | 1.00 |
| Product length | 202 | | | | | | | | |
| Primer pair 7 | | | | | | | | | |
| | Sequence (5'→3') | Template strand | Length | Start | Stop | Tm | GC% | Self complementarity | Self 3' complementarity |
| Forward primer | CCGACATAGCATTCCCTCGG | Plus | 20 | 218 | 237 | 60.32 | 60.00 | 3.00 | 2.00 |
| Reverse primer | TGCCAGCCCCAGTTTCAATA | Minus | 20 | 320 | 301 | 59.59 | 50.00 | 3.00 | 2.00 |
| Product length | 103 | | | | | | | | |
| Primer pair 8 | | | | | | | | | |
| | Sequence (5'→3') | Template strand | Length | Start | Stop | Tm | GC% | Self complementarity | Self 3' complementarity |
| Forward primer | GAGCCGGAATAGTAGGCACA | Plus | 20 | 24 | 43 | 59.25 | 55.00 | 4.00 | 0.00 |
| Reverse primer | ATGGGGCAGCAATCAGAAG | Minus | 20 | 272 | 253 | 60.40 | 55.00 | 3.00 | 0.00 |
| Product length | 249 | | | | | | | | |
| Primer pair 9 | | | | | | | | | |
| | Sequence (5'→3') | Template strand | Length | Start | Stop | Tm | GC% | Self complementarity | Self 3' complementarity |
| Forward primer | TCTCCCTTACCTTGCCTGGA | Plus | 20 | 393 | 412 | 60.47 | 55.00 | 3.00 | 2.00 |
| Reverse primer | TGTTGTGACATTGCTGGGGG | Minus | 20 | 486 | 467 | 60.83 | 55.00 | 5.00 | 0.00 |
| Product length | 94 | | | | | | | | |
| Primer pair 10 | | | | | | | | | |
| | Sequence (5'→3') | Template strand | Length | Start | Stop | Tm | GC% | Self complementarity | Self 3' complementarity |
| Forward primer | GCCGGAATAGTAGGCACAGC | Plus | 20 | 26 | 45 | 60.88 | 60.00 | 4.00 | 2.00 |
| Reverse primer | AGGGTAATGATGGGGCAG | Minus | 20 | 282 | 263 | 59.44 | 55.00 | 3.00 | 1.00 |
| Product length | 257 | | | | | | | | |

Gambar 3. Rekomendasi Hasil Desain Primer dengan Bantuan Situs *Primer Blast* NCBI

Adapun pembandingan software yang digunakan, dimana software tersebut berupa *primer blast* pada situs NCBI. Berdasarkan hasil desain primer dengan menggunakan *primer blast* pada situs NCBI, didapatkan sepuluh kandidat primer untuk gen COI *Crocodylus rhombifer* (Gambar 3). Kandidat pasangan primer *forward* dan *reserve* yang baik adalah kandidat yang

dapat memenuhi kriteria dari desain primer. Berdasarkan hal tersebut maka dipilih satu pasangan primer yang baik, yaitu pasangan primer nomer 6. Pada pasangan primer nomer 6 memiliki primer *forward* : 5'-CGACATAGCATTCCCTCGCA-3' dengan primer *reserve* : 5'-GGATGACTCCAGCAAGGT-3' memenuhi kriteria desain primer yang baik dan ideal.

Kriteria tersebut yaitu dengan panjang primer 20 bp, suhu Tm 60,25°C – 59,67°C, kandungan GC yang sama yaitu 55.00% .

Primer pair 6

| | Sequence (5'→3') | Template strand | Length | Start | Stop | Tm | GC% | Self complementarity | Self 3' complementarity |
|----------------|----------------------|-----------------|--------|-------|------|-------|-------|----------------------|-------------------------|
| Forward primer | CGACATAGCATTCCCTCGCA | Plus | 20 | 220 | 239 | 60.25 | 55.00 | 3.00 | 0.00 |
| Reverse primer | GGATGACTCCAGCAAGGT | Minus | 20 | 421 | 402 | 59.67 | 55.00 | 5.00 | 1.00 |
| Product length | 202 | | | | | | | | |

Gambar 4. Sekuen Primer yang di Rekomendasikan dengan Bantuan Situs *Primer Blast* NCBI

Kandidat pasangan primer *forward* : 5'-CGACATAGCATTCCCTCGCA-3' dengan primer *reserve* : 5'-GGATGACTCCAGCAAGGT-3' memiliki panjang primer masing masing 20 bp yang dimana panjang tersebut bisa dikategorikan pada primer yang spesifik karena panjangnya tidak melebihi 30 bp. Apabila panjang primer tersebut melebihi 30 bp maka akan terjadi penempelan primer menjadi tidak spesifik (Saraswati dkk, 2019).

Menurut Maitriani dkk (2015) persen pada GC yang disarankan itu 50-60%. Persen GC pada desain primer ini akan berpengaruh pada ikatan antara untaian DNA. Hal ini disebabkan oleh kandungan GC yang dapat mempengaruhi suhu *annealing* pada PCR. Cara untuk memutuskan ketiga ikatan hidrogen Guanin dan Sitosin harus membutuhkan suhu yang tinggi dan energy yang besar. Nilai persen pada GC yang tinggi dapat mengakibatkan ikatan antar untaian DNA menjadi kuat, karena di dalam kandungan GC memiliki banyak ikatan antar nukleotida sehingga berpengaruh pada nilai Tm.

Selain itu, ada faktor lain yang harus di perhatikan yaitu pada spesifitas primer seperti halnya *repeats* atau pengulangan dinukleotida secara berurutan dan *runs* ialah pengulangan nukleotida secara berurutan. Hasil dari desain primer tersebut tidak diperbolehkan jika mengandung pengulangan 3 kali bahkan lebih *repeats* dan *runs*. Jika hal itu terjadi maka akan terjadi false priming atau kesalahan penempelan primer pada suhu *annealing* dan produk yang diinginkan tidak sesuai (Anika dkk, 2019).

Dari kedua situs dan *software* untuk mendesain primer gen COI *Crocodylus rhombifer* yang lebih efektif digunakan adalah *software* *PerPrimer* karena keterangan yang diberikan oleh *software* tersebut lebih mudah dianalisis secara manual. Hasil yang didapatkan pun lebih baik yang dimana factor yang mempengaruhi suatu reaksi PCR lebih mudah didapat dan diketahui dan juga bisa dibuat sesuai dengan kebutuhan. Salah satu faktor yang penting untuk reaksi PCR adalah pemilihan primer DNA yang tepat. Dalam proses PCR ini primer memiliki fungsi untuk pembatas fragmen DNA target yang akan di amplifikasi dalam penyediaan gugus hidroksi pada ujung 3' dalam proses eksistensi DNA (Yusuf, 2010)

KESIMPULAN

Hasil amplifikasi yang didapatkan yaitu bp dari *PerlPrimer* yakni 20 bp dari 11 forward dan untuk *PrimerBlast* NCBI juga mendapatkan 20 bp. Pada hasil desain primer yang didapatkan melalui *software* *PerlPrimer* berupa sebelas kandidat primer untuk gen COI *Crocodylus rhombifer*. Sebelas kandidat primer tersebut diseleksi kembali sesuai dengan kriteria primer yang baik untuk PCR. Dan hasil yang bagus ditunjukkan oleh pasangan primer nomor 1. Sedangkan *PrimerBlast* NCBI mendapat 10 forward dan pasangan primer yang dikategorikan spesifik ditunjukkan oleh nomor 6. Dari penggunaan kedua *software* tersebut didapatkan hasil yang cukup spesifik dan baik digunakan dalam membantu desain primer. Hasil yang telah diperoleh merupakan hasil penelitian yang telah dilakukan secara daring dirumah.

DAFTAR PUSTAKA

- Ali, A. (2017). Analisis pelaksanaan praktikum anatomi fisiologi tumbuhan jurusan pendidikan biologi semester genap tahun akademik 2016/2017. *Jurnal Biotek*, 5(1), 144-154.
- Anggereini, E. (2008). *Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)*, Suatu Mdel Analisis DNA Dalam Menjelaskan Berbagai Fenomena Biologi. *Biospecies*. 1(2), 73-76.
- Anika M., Putri, D. H., & Wahyuni, W. (2019). Primer Design For Identification Of Beta-Carotene Encoding Genes In Cassava. *Serambi Biologi*. 4(1), 39-47
- Borah, P. (2011). Primer Designing For Pcr. *Science Vision*, 11(3), 134-136.
- Maitriani, L. K. B., Wirajana, I. N., & Yowani, S. C. (2016). Desain Primer Untuk Amplifikasi Fragmen Gen Inha Isolat 134 Multidrug Resistance Tuberculosis (Mdr-Tb) dengan Metode Polymerase Chain Reaction. *Cakra Kimia (Indonesian E-Journal Of Applied Chemistry)*, 3(3), 89-95.
- Maksum, I. P., Athiyah, F., Saadah, D. R., & Yohanis, N. (2013). Making of the A3243g Mutant Template Through Site Directed Mutagenesis as Positive Control in PASA-Mismatch Three Bases. *International Journal of Pharm Tech Research*, 5(2), 441-450.
- Saraswati, H., Seprianto, S., & Wahyuni, F. D. (2019). Desain Primer Secara In Silico Untuk Amplifikasi Gen Cryiii Dari Bacillus Thuringiensis Isolat Lokal. *Indonesian Journal of Biotechnology And Biodiversity*, 3(1), 33-38.
- Sasmitha, L. V., Yustiantara, P. S., & Yowani, S. C. (2018). Desain Dna Primer Secara In Silico Sebagai Pendeteksi Mutasi Gen Gyra Mycobacterium Tuberculosis Untuk Metode Polymerase Chain Reaction. *Cakra Kimia (Indonesian E-Journal Of Applied Chemistry)*, 6(1), 63-69.
- Sasmito, D. E. K., Rahadian, K., & Muhimmah, I. (2014). Karakteristik Primer Pada *Polymerase Chain Reaction (PCR)* Sekuensing DNA: Mini Review. *Seminar Nasional Informatika Medis (SNMed)*, 1(5), 93-102.
- Utami, D. K., Wisnu, A. K., & Agus, B. (2014). Klasifikasi Metagenom dengan Metode Nave Bayes Classifier *Metagenome Classification Using Nave Bayes Classifier Method*. *Jurnal Ilmu Komputer Agri-Informatika*, 3(1), 9-18.
- Wahyudi, I. A. (2015). Resensi Biologi Molekular adalah Ilmu Yang Menyenangkan dan Mudah. *Jurnal Teknosains*. 4(2), 101-198.
- Widiatri, W. (2017). Rancang Bangun Website Sistem Informasi Praktikum Jurusan Teknik Informatika Univeritas Palangka Raya. *Jurnal Saintekom*, 6(2), 12-24.
- Yusuf, Z. K. (2010). Polymerase Chain Reaction (PCR). *Saintek*, 5(6), 1-6.