

DESAIN PRIMER *MULTIPLEX* PCR UNTUK DETEKSI JAMUR PATOGEN SEBAGAI UPAYA PENINGKATAN PRODUKTIVITAS PORANG (*Amorphophallus muelleri*)

MELZA AULIA SRI REZEKI
NIM 1217020040

ABSTRAK

Porang (*Amorphophallus muelleri*) merupakan tanaman umbi asli Indonesia yang memiliki nilai ekonomi tinggi karena kandungan glukomanannya. Namun, produktivitas porang mengalami penurunan akibat infeksi jamur patogen yang menyerang organ penting tanaman seperti akar, batang, daun, dan umbi. Oleh karena itu, deteksi dini berbasis molekuler dengan teknik *multiplex* PCR dapat menjadi strategi efektif dalam pengendalian penyakit tanaman. Penelitian ini dilakukan menggunakan pendekatan *in silico* untuk mendesain primer *multiplex* PCR yang menargetkan gen spesifik jamur patogen pada tanaman porang, yaitu gen CAL (*Cercospora* sp.), gen SIX (*Fusarium oxysporum*), gen Ypt1 (*Phytophthora colocasiae*), gen PG1 (*Rhizoctonia solani*), dan gen TUB2 (*Colletotrichum gloeosporioides*). Tahapan penelitian diawali dengan pengambilan sekuens gen target dari NCBI, analisis homologi menggunakan BLAST, penyelarasan sekuens konservatif menggunakan MultAlin, serta desain primer secara manual dan otomatis menggunakan Primer3. Uji validasi primer didasarkan pada karakteristik panjang primer, kandungan GC, *melting temperature* (T_m), *annealing temperature* (T_a), GC *clamp*, *runs*, *repeats*, dan potensi pembentukan struktur sekunder seperti *hairpin*, *self-dimer*, dan *cross-dimer*. Simulasi *in silico* PCR dilakukan menggunakan FastPCR untuk menguji spesifisitas dan efisiensi amplifikasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa sejumlah kandidat primer tidak lolos uji validasi karakteristik primer karena membentuk struktur sekunder, khususnya *self-dimer* dan *cross-dimer* dengan nilai ΔG di bawah batas toleransi ($\Delta G < -6$ kcal/mol). Pasangan primer terpilih yang direkomendasikan untuk *multiplex* PCR terdiri atas PAF2 & PAR3, PBF2 & PBR5, PCF4 & PCR5, PDF5 & PDR1, serta MEF1 & MER1 karena memiliki rentang suhu *annealing* yang berdekatan (56,3-58,35°C) dan secara *in silico* masing-masing pasangan primer tersebut berhasil mengamplifikasi fragmen gen spesifik jamur patogen (382 bp gen CAL, 224 bp gen SIX, 258 bp gen Ypt1, 611 bp gen PG1, dan 1039 bp TUB2).

Kata Kunci: desain primer, *in silico*, *multiplex* PCR, patogen, porang