

Perbandingan Desain Primer Gen Catalase (CAT) dengan BLAST & Primer3 Pada Padi (*Oryza Sativa*): Studi *In Silico*

Comparison of Catalase (CAT) Gene Primer Design Using BLAST and Primer3 in Rice (Oryza sativa): An In Silico Study

Aninditha Rizqulloh Tatsbita Nashif¹, Aventya Aurelia Cindy Azzahra², Shella Yuni Arbita¹, Dyan Erlina Dwiastuti¹, Rasmiyana Rasmiyana^{1*}

¹ Teknologi Rekayasa Pangan, Teknologi Pertanian, Politeknik Negeri Jember

² Jurusan Biosains Hewan, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor

*Email Koresponden: Rasmiyana@polije.ac.id

Received : 5 September 2025 | Accepted : 26 September 2025 | Published : 8 November 2025

Kata Kunci	ABSTRAK
Enzim katalase (CAT), <i>Desain Primer, In silico, Oryza Sativa, Reactive Oxygen Species (ROS)</i>	Enzim katalase (CAT) merupakan salah satu enzim antioksidan yang berperan dalam menghilangkan <i>Reactive Oxygen Species (ROS)</i> , penyebab stres abiotik pada tanaman padi. Selain itu, enzim ini berpotensi meningkatkan stabilitas oksidatif bahan pangan, membantu proses fermentasi, serta mendukung pengawetan. Potensi tersebut mendorong perlunya perancangan primer secara <i>in silico</i> untuk memperoleh kandidat primer yang memenuhi kriteria ideal pada proses amplifikasi PCR. Desain primer perlu dilakukan karena perlu dipastikan bahwa katalase telah memenuhi kriteria agar proses PCR dapat berjalan dengan baik. Penelitian ini bertujuan untuk merancang dua desain primer spesifik gen katalase (CAT) pada <i>Oryza sativa</i> sebagai <i>in silico</i> menggunakan perangkat bioinformatika <i>Primer-BLAST</i> dan <i>Primer3Plus</i> . Metode penelitian dilakukan dengan menganalisis sekuens gen katalase (CAT) dari <i>Oryza sativa</i> dari NCBI, kemudian dilakukan perancangan primer secara <i>in silico</i> menggunakan <i>Primer-BLAST</i> dan <i>Primer3Plus</i> . Hasil penelitian ini didapatkan pasangan primer dari software <i>Primer-BLAST</i> yaitu primer forward 5'-CCCCAAGCAAACATAACCGC-3' dan primer reverse 5'-GCATGCCCTCCTAGATTCC-3' dengan panjang primer masing masing 20 bp. Desain primer dengan <i>Primer-BLAST</i> menghasilkan primer yang paling ideal, meskipun pengaturan parameternya kurang fleksibel. <i>Primer3Plus</i> memberikan kemudahan dalam proses desain namun data yang dihasilkan kurang lengkap sehingga perlu pengecekan lebih lanjut.

Keywords	ABSTRACT
<i>Catalase enzyme, In silico, primer design, Oryza sativa, Reactive oxygen species</i>	<i>Catalase (CAT) is an antioxidant enzyme that plays an important role in removing Reactive Oxygen Species (ROS), the main cause of abiotic stress in rice plants. In addition, this enzyme has potential applications in improving oxidative stability of food products, supporting fermentation processes, and contributing to preservation. These potentials highlight the need for in silico primer design to obtain candidate primers that meet the ideal criteria for PCR amplification. Primer design is necessary to ensure that catalase meets the required criteria so that the PCR process can run effectively. This study aimed to design two specific primer sets for the catalase (CAT) gene in Oryza sativa through in silico analysis using bioinformatics tools Primer-BLAST and Primer3Plus. The research method involved analyzing the catalase (CAT) gene sequence of Oryza sativa obtained from NCBI, followed by in silico primer design using Primer-BLAST and Primer3Plus. The results produced a primer pair from Primer-BLAST software, consisting of a forward primer (5'-CCCCAAGCAAACATAACCGC-3') and a reverse primer (5'-GCATGCCCTCCTAGATTCC-3'), each 20 bp in length. Primer-BLAST generated the most ideal primer design, although its parameter settings were less flexible. Meanwhile, Primer3Plus provided convenience in primer design but produced less comprehensive data, thus requiring further verification.</i>

1. PENDAHULUAN

Padi (*oryza sativa*), padi merupakan salah satu pokok sumber makanan di asia terutama Indonesia, padi banyak dibudidayakan oleh masyarakat karena pertumbuhannya yang tergolong mudah tumbuh (oktaviani et al., 2021). Padi memiliki sistem antioksidan enzimatik yang efisien sebagai pertahanan pada kerusakan akibat ROS (*Reactive oxygen species*) (You & Chan, 2015). Salah satu enzim antioksidan dalam menghilangkan ROS (*Reactive oxygen species*) adalah enzim katalase. Enzim katalase (*Catalase/CAT*) merupakan salah satu enzim antioksidan yang berperan dalam menetralisir radikal bebas, khususnya hidrogen peroksida (H_2O_2), menjadi air dan oksigen (Anwar dkk., 2024). Peran enzim ini penting dalam menjaga keseimbangan redoks seluler, terutama pada organ seperti hati yang rentan terhadap stres oksidatif akibat paparan bahan kimia, alkohol, atau radikal bebas dari proses metabolisme. Dalam bidang pangan, aktivitas katalase tidak hanya berperan dalam sistem biologis tetapi juga memiliki potensi besar dalam meningkatkan stabilitas oksidatif bahan pangan, membantu proses fermentasi, mengurangi dampak negatif dari spesies oksigen reaktif (*Reactive Oxygen Species/ROS*), serta pengawetan yang dapat mempengaruhi kualitas dan keamanan produk akhir (Werdhasari Asri, 2014). Dari hal ini dilakukan pengembangan dengan pendekatan molekuler. Teknik yang umum digunakan untuk menganalisis dan mengembangkan adalah dengan *polymerase chain reaction* (PCR). Kelebihan PCR adalah kemampuannya mengidentifikasi banyak sampel berisiko tinggi dengan efisiensi yang cepat dalam meng amplifikasi fragmen DNA. Kelemahan metode ini meliputi kebutuhan akan DNA probe (sekuen DNA atau RNA), serta kondisi kerja yang tidak optimal dan kesalahan pengaturan PCR yang dapat menyebabkan variabilitas besar dalam hasil (Evans, 2009).

Teknik amplifikasi materi genetik telah memungkinkan studi ekstensif terhadap berbagai aktivitas biologis di luar lingkungan biologis sistem hidup (Widodo, 2025) Assay amplifikasi asam nukleat merepresentasikan kategori metodologi yang penting untuk deteksi sekuens target dalam penelitian biologi kontemporer (Davi dkk., 2021) Untuk mendapatkan

suatu primer yang memenuhi kriteria primer yang baik untuk amplifikasi dilakukan desain secara *in silico* (Saraswati dkk., 2019) Pendekatan *in silico* dalam biologi komputasi telah berkembang sebagai metode yang menggabungkan ilmu komputer dan teknik informatika untuk memahami data biologis kompleks, memungkinkan pengumpulan, koneksi, dan analisis data biologis dalam skala besar serta membangun model prediktif (Ananya dkk., 2024)

National Center for Biotechnology Information (NCBI) merupakan pusat data bioteknologi dan biomedis di bawah naungan *National Library of Medicine* (NLM), bagian dari *National Institutes of Health* (NIH) Amerika Serikat. NCBI menyediakan berbagai basis data dan perangkat analisis bioinformatika, seperti GenBank untuk sekuens DNA, PubMed untuk literatur ilmiah, BLAST untuk analisis homologi sekuens, Primer-BLAST untuk perancangan dan validasi primer, serta ORF Finder untuk identifikasi *open reading frame*. Dalam penelitian terkait gen katalase (*CAT*) dari *oryza sativa*, NCBI berperan penting sebagai sumber data sekuens yang akurat dan platform perancangan primer yang spesifik melalui Primer-BLAST. Ketersediaan data yang lengkap, serta dapat diakses secara bebas menjadikan NCBI komponen vital dalam analisis bioinformatika, selain menggunakan Primer-BLAST dalam mendesain primer, terdapat platform lain yang juga dapat mendesain primer yaitu Primer 3 Plus. Primer 3 Plus merupakan platform yang dirancang dalam mendesain Primer PCR secara otomatis dan sistematis yang berintegrasi. Pada primer3plus dapat mengatur sekuens dengan ketentuan panjang biasanya, mengatur target suhu dan control terhadap GC. Algoritma pada Primer 3 Plus dibangun dengan metode *nearest-neighbor thermodynamic* yang *sophisticated* (Koressaar & Remm, 2007). Primer yang dirancang dengan baik memastikan amplifikasi spesifik terhadap target yang diinginkan dengan pencegahan primer menempel pada sekuens lain dalam orientasi dan jarak tertentu yang dapat menyebabkan amplifikasi yang tidak diinginkan (Ye dkk., 2012)). Primer menjadi dasar untuk menginisiasi sintesis DNA pada posisi yang tepat dan menentukan batas-batas fragmen DNA yang akan diamplifikasi. Dimana aspek kritis desain primer meliputi kandungan GC, *GC clamp*, *Melting Temperature* (TM), struktur sekunder, dan panjang primer.

Penelitian ini bertujuan untuk merancang dua desain primer spesifik gen katalase (*CAT*) pada *Oryza sativa* secara *in silico* menggunakan perangkat bioinformatika Primer-BLAST dan Primer3Plus. Desain primer ini diharapkan dapat mendukung analisis molekuler dan rekayasa genetika gen katalase sehingga dapat mengembangkan ekspresi enzim yang berperan dalam menetralkan hidrogen peroksida dalam meningkatkan stabilitas oksidatif produk pangan.

2. METODE

Penelitian ini dilakukan pada bulan Maret-Mei 2025 di Jurusan Teknologi Pertanian Politeknik Negeri Jember. Bahan yang digunakan pada penelitian ini berupa gen katalase (*CAT*) dari *oryza sativa*. Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah penelitian kearah bioinformatika sehingga alat yang digunakan yaitu PC atau laptop, Jaringan internet dan web NCBI serta Primer 3 Plus untuk desain Primer.

2.1 Prosedur

Sekuen gen katalase (*CAT*) dari *oryza sativa* yang diperoleh dari situs www.ncbi.nlm.nih.gov dan primer 3Plus digunakan sebagai *template* dalam mendesain sepasang primer.

2.1.1 Proses desain Primer

a. Primer 3plus

Langkah-langkah yang digunakan untuk desain primer dengan Primer3plus. Siapkan fasta yang akan digunakan dalam desain primer. Buka primer3plus dengan alamat web <https://www.primer3plus.com/index.html> , dan klik pada “main” dan masukan pada template

Primer3Plus

pick primers from a DNA sequence

More...

Help

Source...

About

Load server settings:

Default

Activate Settings

TASK: generic

Select primer pairs to detect the given template sequence. Optionally targets and included/excluded regions can be specified.

Pick Primers

Reset Defaults

Main

General Settings

Advanced Settings

Internal Oligo

Penalties

Advanced Seq.

Results

Sequence ID:

Paste template sequence below or upload sequence file:

Choose File

No file chosen

Load Example

>NC_009040.1:31814698-31818725 Oryza sativa Japonica Group chromosome 6, ASH3414082v1

AGGGAGGCGCGCAAGAGCATAC

TAGCAGCGCTAGCAAAACCCCCTTCTCTGTCGCCAAATTGCAGCTAC

AAAAAAGGCGCCCCCTTCTCTCTCTCGTCTCTATCACCACCAACCTGCATCTCTCTCTCTCTCT

CTTCTTCTCCAGATCCAGTGTGATTCATCTCTCCCAACAAAATCAGCCATGGATCTCTCAAGAGGTG

CGCGCTCTCTTGATTTCTTTCTTTCTAGATTGATCTCGATTTGGTTTGGTTTGGTTTCTTGATGGCG

TCATCCCAATCTGACTGACTCTCATGGATCTCTCTCTTGCAGTACCTGCCCCCTCACGCGGGAGGAATTC

ACCTTCTGGACCAACAATCCGGCGCCCGCTCTGGAAACAACCTGCGCCCTCAGTCTGGAGAGGAG

GATCTGAGCTGTGCTCCATCCCATCTTCTCTCATCTCTCTCTCCAGCAATCTCTATCTCTGATCAT

CTCTCTCTCTCTGATAGAGCGTATTGTGGGTTGGCTTCATCATGATCCATCTGTTAACTTGTGAAGCAT

CAGACTGCTTAATAATTGTCTGTGCTGTGGTAGCAACGAAGAAGGCTCTCTGGATCTGTGTGAATTCGATCT

TAGCAGCAGCTGTGCGATCTGCTCTACTTACTTGTCTTGTAGAGCATTTCAAAAGTTGCATCTTTGGTGT

GGGGGGGGTTTTGACGCTTTTGCTTTGAGTAACATCTGCTTCTCTGATCTCTGATCATCTGCTGCT

Mark selected region:

< Excluded >

[Target]

[Included]

Clear

Regions from Seq.

Save Sequence

Exclude Regions:

<

>

Targets:

{

}

Included Region:

{

}

Primer overlap positions:

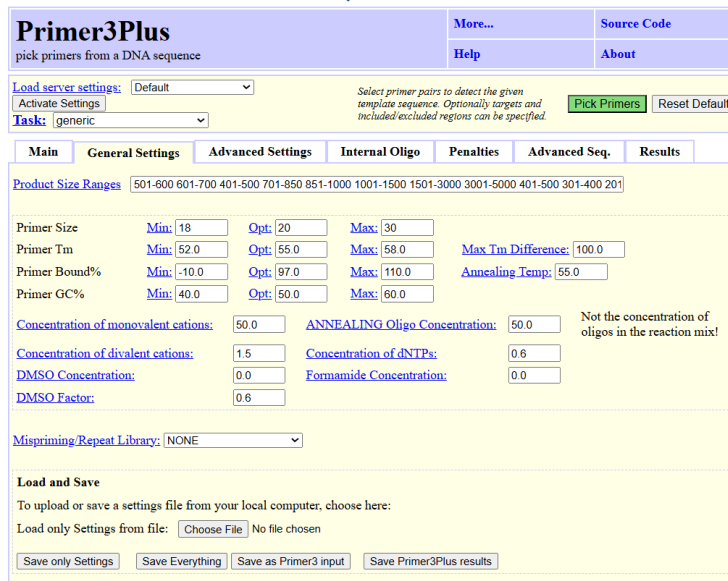
-

Pair OK Region List:

☒ Pick left primer

☐ Pick hybridization probe

☒ Pick right primer



Langkah-langkah yang digunakan untuk desain primer dengan NCBI adalah sebagai berikut. Buka web NCBI <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/> . Masukkan Fasta yang telah di dapat pada *GeneBank* pada template. pada bagian parameter primer sesuaikan parameter yang akan digunakan. setelah semua selesai klik get primer. Lalu pilihan pasang primer akan muncul.

The screenshot displays the primer3plus web interface, which is used for designing PCR primers. The interface is divided into several sections:

- PCR Template:** Contains a text area for entering the accession, GI, or FASTA sequence. A blue arrow points to the 'Enter accession, gi, or FASTA sequence' field.
- Primer Parameters:** Includes fields for 'Use my own forward primer (5' to 3' on plus strand)' and 'Use my own reverse primer (5' to 3' on minus strand)'. It also has fields for 'PCR product size' (Min: 70, Max: 1000), '# of primers to return' (10), 'Primer melting temperatures (T_m)' (Min: 52.0, Opt: 55.0, Max: 58.0), and 'Primer Location Preference' (checked: Prefer primers at 3' side of the template).
- Exon/intron selection:** Includes 'Exon junction span' (No preference), 'Exon junction match' (Min 5' match: 7, Min 3' match: 4, Max 3' match: 8), 'Intron inclusion' (unchecked), and 'Intron length range' (Min: 1000, Max: 10000).
- Primer Pair Specificity Checking Parameters:** Includes 'Specificity check' (checked), 'Search mode' (Automatic), 'Database' (Refseq mRNA), 'Exclusion' (unchecked), 'Organism' (4530), 'Entrez query (optional)', 'Primer specificity stringency' (Primer must have at least 2 total mismatches to unintended targets, including at least 2 mismatches within the last 5 bps at the 3' end), 'Max target amplicon size' (4000), and 'Allow splice variants' (unchecked).

At the bottom, there are checkboxes for 'Show results in a new window' and 'Use new graphic view', and a 'Get Primers' button.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis primer dengan software bioinformatika bertujuan untuk mencari kandidat primer yang memenuhi kriteria ideal untuk proses amplifikasi pada tahapan PCR secara in vitro (Kearse dkk., 2012). Dalam pemilihan primer hal-hal yang harus diperhatikan yaitu panjang primer, *melting temperature* (T_m), suhu annealing (T_a), *GC content*, *secondary structures* berupa *hairpin*, *selfdimer*, *cross dimer* serta ukuran amplicon primer (Borah, 2011). Panjang primer yang optimal adalah 18-22 bp. Primer yang terlalu pendek dapat mengurangi spesifisitas primer sedangkan primer yang terlalu panjang menyebabkan reaksi PCR tidak berjalan dengan baik (Garg, 2008). T_m adalah suhu ketika DNA beruntai ganda berubah bentuk menjadi DNA beruntai tunggal. T_m yang baik untuk primer berada di kisaran 52-58°C. T_m yang terlalu tinggi cenderung membentuk struktur sekunder (Shaden M. H. Mubarak, 2020).

a. Primer 3 plus

Hasil desain primer yang diperoleh dengan menggunakan primer3plus mendapatkan 3 pasang kandidat primer (Tabel 1). Selanjutnya kandidat tersebut dipilih 1 pasang primer terbaik berdasarkan beberapa parameter yang telah disebutkan sebelumnya. Pasangan primer yang paling ideal dari primer 3plus adalah pasangan primer 1 (5' GAATTTTCATGCACAGGGATG 3' dan 3' AACTGTGTTACAAAG-ACGG 5'). Pasangan primer ini memiliki panjang 20 bp. Panjang primer yang ideal umumnya berkisar antara 18-22 bp (Eling Sasmito dkk., 2014). Ujung primer ada G diujung 3' yang disarankan adalah G dengan tujuan menjaga kestabilan saat proses polimerisasi. Struktur hairpin ditemukan namun relatif rendah dengan T_m hairpin 43,6 C pada *forward* sedangkan pada primer *reverse* cukup stabil. Persentase yang rendah

dipilih karena struktur hairpin harus diminimalkan dihilangkan tanpa adanya hairpin (Khaira dkk., 2023). Nilai penalti dari pair satu paling kecil dibandingkan pasangan primer lainnya yaitu sebesar 0.007. Panjang ampikon atau produk dari pasang primer 1 sebesar 507 bp. Panjang ampikon PCR standar sebesar 100-500 bp dimana proses perpanjangan dalam PCR terjadi kurang dari 1 menit karena panjang <1000 bp (Khaira dkk., 2023). Dengan demikian pasang primer 1 dapat dikatakan sebagai pasangan primer yang paling ideal dibandingkan dengan pasangan lainnya.

Tabel.1 Karakteristik Kandidat Primer Primer3Plus

Set	Primer	Sekuen	Tm(°C)	GC (%)	Length (bp)	Panjang produk
Pair 1	<i>Left</i>	GAATTTTCATGCACAG GGATG	55.0	45.0	20	507
	<i>Right</i>	GGCAGAAAACATTG TGTCAG	55.0	40.0	20	
Pair 2	<i>Left</i>	CTCCTATGCTGATAC CCAA	55.0	45.0	20	593
	<i>Right</i>	ATGCATGTGGTCATT GTACT	55.0	40.0	20	
Pair 3	<i>Left</i>	CTCATCTCTCCCACA ACAAA	55.0	45.0	20	584
	<i>right</i>	GGTAGTGACAAGGA CATGTT	55.0	45.0	20	

b. Primer BLAST

Hasil yang didapatkan dari desain primer menggunakan Primer BLAST menghasilkan 3 pasang primer (Tabel 2) Kriteria primer yang baik merupakan kunci dari keberhasilan dalam Teknik PCR.

Tabel 2. Karakteristik Kadidat Primer BLAST

Set	Primer	Sekuen	Tm(°C)	GC (%)	length	Panjang produk
Pair 1	<i>Forward</i>	CATCGAAGAGTTTGAGCAAC	55.04	45.00	20	486
	<i>Reverse</i>	CAGCAAGGCATATTTTCAGG	55.00	45.00	20	
Pair 2	<i>Forward</i>	GAATTTTCATGCACAGGGATG	55.00	45.00	20	806
	<i>Reverse</i>	GCACCCACGAAGAAATTATG	55.06	45.00	20	
Pair 3	<i>Forward</i>	CATAATTTCTTCGTGGGTGC	55.06	45.00	20	163
	<i>Reverse</i>	TGTTTGGTTTCAGGTTGAG	55.01	40.00	20	

Dari 3 pasang yang yang didapat terlihat bahwa pair 1 merupakan primer yang sesuai. Pasang primer 1 menunjukkan karakteristik yang optimal untuk amplifikasi. Kedua primer dalam pasangan ini memiliki panjang 20 nukleotida, yang berada dalam rentang ideal 18-20 bp Panjang primer yang ideal umumnya berkisar antara 18-22 (Eling Sasmito dkk., 2014) Parameter *melting temperature* (Tm) pada *forward primer* memiliki Tm 55.04°C dan *reverse primer* 55.00°C. Nilai Tm ini berada dalam rentang optimal 52-65°C dengan selisih Tm antara primer *forward* dan *reverse* adalah 0,04°C. Selisih Tm antara primer *forward* dan *reverse* yang baik adalah tidak lebih dari 5°, jika selisih lebih dari 5° dapat menyebabkan penurunan efisiensi proses amplifikasi pada saat proses PCR (Eling Sasmito dkk., 2014).

Komposisi *GC content* pada Pasang primer1 menunjukkan konsistensi yang sangat baik, dengan kedua primer memiliki 45% *GC content Self-complementarity* menunjukkan nilai yang sangat rendah yaitu 4.00 untuk kedua primer, yang jauh di bawah threshold kritis untuk pembentukan primer dimer. Parameter *self 3' complementarity* yang sangat rendah (2.00 untuk kedua primer) indikator kuat bahwa risiko *false priming* pada ujung 3' primer sangat minimal

(Batubara dkk., 2024). Ukuran produk PCR yang dihasilkan oleh primer pair 1 adalah 486 bp, yang merupakan ukuran ideal untuk sebagian besar aplikasi PCR konvensional. Fragmen dengan ukuran ini dapat diamplifikasi dengan efisiensi tinggi menggunakan kondisi PCR standard, memerlukan extension time yang reasonable (sekitar 30 detik pada 72°C) (Puspitaningrum & Chris Adhiyanto, 2018).

Tabel 3. Perbandingan Desain Primer3Plus dan BLAST

Tools	Primer	Sekuens	TM	GC	Length	Panjang Produk
Primer 3Plus	Forward	GAATTTTCATGCACAGGGATG	55.00	45.00	20	507
	Reverse	GGCAGAAAACATTGTGTCAA	55.00	45.00	20	
Primer BLAST	Forward	CATCGAAGAGTTTGAGCAAC	55.04	45.00	20	486
	Reverse	CAGCAAGGCATATTTTCAGG	55.00	45.00	20	

Hasil analisis primer yang didesain menggunakan Primer3Plus dan Primer-BLAST (Tabel3) menunjukkan hasil kandidat primer dengan karakteristik yang mendekati kriteria ideal untuk PCR. Kandidat terbaik dari Primer3Plus adalah Pair 1, dengan panjang 20 bp, nilai Tm sebesar 55 °C, kandungan GC 45%, serta ukuran produk PCR sebesar 507 bp. Karakteristik ini sesuai dengan standar umum bahwa primer yang baik memiliki panjang 18–22 bp, GC content 40–60%, serta Tm berkisar 52–58 °C (Rodríguez dkk., 2015) Namun, kelemahan Primer3Plus Pair 1 adalah adanya struktur hairpin meskipun dengan nilai penalti rendah (0.007), serta ukuran produk PCR (507 bp) yang sedikit lebih panjang dari rentang optimal 100–500 bp (Davidović dkk., 2014).

Sementara itu, kandidat terbaik dari Primer-BLAST dengan panjang primer 20 bp, nilai Tm *forward* 55.04 °C dan *reverse* 55.00 °C (selisih hanya 0.04 °C), GC content 45%, serta ukuran produk PCR 486 bp. Karakteristik tersebut lebih ideal dibanding Primer3Plus karena produk PCR atau *amplicon* berada dalam rentang optimal, selisih Tm sangat kecil (di bawah 0.5 °C), dan nilai *self-complementarity* rendah, yang menandakan risiko pembentukan primer dimer minimal. Perbedaan Tm yang kecil antara primer *forward* dan *reverse* (<5 °C) akan meningkatkan efisiensi dan spesifisitas amplifikasi PCR (Eling Sasmito dkk., 2014). Selain itu, ukuran fragmen PCR di bawah 500 bp umumnya direkomendasikan untuk memaksimalkan efisiensi polimerase DNA (Khaira dkk., 2023).

Perbandingan tersebut dapat disimpulkan bahwa Primer-BLAST menghasilkan primer yang terbaik karena parameter desainnya lebih mendekati kriteria ideal, terutama dari segi kestabilan Tm, panjang produk PCR, serta rendahnya risiko struktur sekunder. Secara umum, penggunaan Primer3Plus memiliki kelebihan dalam fleksibilitas pengaturan parameter desain primer dan kemudahan memperoleh beberapa kandidat, tetapi kekurangannya adalah kurangnya integrasi dengan database genom sehingga potensi amplifikasi non-spesifik lebih tinggi. Sebaliknya, Primer-BLAST memiliki kelebihan utama dalam kemampuannya melakukan pencarian spesifisitas langsung ke seluruh database genom NCBI, sehingga meminimalisasi risiko amplifikasi non-target (Garafutdinov dkk., 2020).

c. Aplikasi katalase dalam pangan

Katalase berperan penting dalam mereduksi *Reactive Oxygen Species (ROS)*, yang dapat menyebabkan peroksidasi lipid, denaturasi protein, serta mutasi DNA. Akumulasi ROS berdampak pada penurunan kualitas nutrisi, gizi, dan keamanan pangan. Dengan aktivitas katalase, ROS dapat dieliminasi karena enzim ini berfungsi sebagai antioksidan alami, melindungi biomolekul dari kerusakan oksidatif, serta membantu mempertahankan daya simpan produk pangan (Werdhasari Asri, 2014).

Pengaplikasian enzim katalase menunjukkan bahwa peningkatan aktivitas katalase mampu menekan efek kerusakan oksidatif. Misalnya, ekstrak tomat dapat meningkatkan

aktivitas katalase pada hepar tikus yang terpapar minyak jelantah, sehingga berpotensi diaplikasikan sebagai sumber antioksidan alami dalam pangan (Candra & Rahadiyanti, 2020). Selain itu, madu kelengkeng juga dilaporkan meningkatkan aktivitas enzim katalase dan superoksida dismutase pada model hewan, menunjukkan potensi pemanfaatannya sebagai bahan pangan fungsional dengan sifat antioksidan (Yuniastuti & Arum Sasi, 2015)

Desain primer menjadi hal yang penting sebelum mengaplikasikan katalase pada produk pangan. Dengan primer yang memenuhi kriteria ideal, amplifikasi PCR dapat berjalan spesifik dan efisien, memastikan identifikasi dan ekspresi gen katalase yang benar. Hal ini akan berpengaruh langsung pada efektivitas katalase saat digunakan dalam pangan, terutama dalam memperlambat kerusakan oksidatif serta menjaga nutrisi dan keamanan produk.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan analisis yang telah dilakukan Primer-BLAST menghasilkan pasangan primer terbaik, yaitu forward (5'-CATCGAAGAGTTTGAGCAAC-3') dan reverse (5'-CAGCAAGGCATATTTTCAGG-3'), dengan panjang 20 bp, T_m sekitar 55°C, GC content 45%, dan ukuran produk PCR 486 bp. Primer ini unggul karena spesifisitas tinggi, risiko primer dimer rendah, dan parameter optimal untuk amplifikasi PCR yang efisien. Sebaliknya, Primer3Plus menghasilkan primer dengan produk PCR 507 bp, kandungan GC 45%, dan T_m 55°C, namun dengan data kurang lengkap dan potensi struktur hairpin. Primer3Plus memberikan fleksibilitas pengaturan parameter, tetapi Primer-BLAST lebih unggul karena integrasi dengan database NCBI, meminimalkan amplifikasi non-target. Desain primer ini mendukung pemanfaatan katalase dalam pengawetan pangan dan fermentasi, berkontribusi pada pengembangan produk pangan fungsional dan ketahanan tanaman terhadap stres lingkungan. Penelitian ini memperkuat peran bioinformatika dalam bioteknologi pertanian dan pangan.

DAFTAR PUSTAKA

- Ananya, Panchariya, D. C., Karthic, A., Singh, S. P., Mani, A., Chawade, A., & Kushwaha, S. (2024). Vaccine design and development: Exploring the interface with computational biology and AI. *International Reviews of Immunology*, 43(6), 361–380. <https://doi.org/10.1080/08830185.2024.2374546>
- Anwar, S., Alrumaihi, F., Sarwar, T., Babiker, A. Y., Khan, A. A., Prabhu, S. V., & Rahmani, A. H. (2024). Exploring Therapeutic Potential of Catalase: Strategies in Disease Prevention and Management. *Biomolecules*, 14(6), 697. <https://doi.org/10.3390/biom14060697>
- Batubara, J., Gultom, R., Hutagaol, A., Parapat, G., Marpaung, R., Hafzari, R., Ningsih, A., & Pasaribu, R. (2024). Desain Primer In Silico Untuk Amplifikasi Genus Andaliman Dengan Aplikasi Bioinformatika. *Jurnal Biologi*, 1(4), 8. <https://doi.org/10.47134/biology.v1i4.3283>
- Borah, P. (2011). *Primer designing for PCR*. www.sciencevision.in
- Candra, A., & Rahadiyanti, A. (2020). EFEK EKSTRAK TOMAT (SOLANUM LYCOPERSICUM) TERHADAP ENZIM KATALASE HEPAR TIKUS WISTAR (RATTUS NORVEGICUS) YANG TERPAPAR MINYAK JELANTAH The Effect of Tomato Extract (Solanum lycopersicum) on Liver Catalase Enzyme in Wistar Rats (Rattus norvegicus) that was Given Reused Cooking Oil. *JNH (Journal of Nutrition and Health)*, 8(1).

- Davi, M. J. P., Jeronimo, S. M. B., Lima, J. P. M. S., & Lanza, D. C. F. (2021). Design and in silico validation of polymerase chain reaction primers to detect severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2). *Scientific Reports*, 11(1), 12565. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-91817-9>
- Davidović, R. S., Božović, A. M., Mandušić, V. L., & Krajnović, M. M. (2014). Methylation-specific PCR: Four steps in primer design. Dalam *Central European Journal of Biology* (Vol. 9, Nomor 12, hlm. 1127–1139). Versita. <https://doi.org/10.2478/s11535-014-0324-z>
- Eling Sasmito, D. K., Kurniawan, R., & Muhimmah, I. (2014). Karakteristik Primer pada Polymerase Chain Reaction (PCR) untuk Sekuensing DNA: Mini Review. Dalam *Seminar Nasional Informatika Medis*.
- Evans, M. F. (2009). The polymerase chain reaction and pathology practice. *Diagnostic Histopathology*, 15(7), 344–356. <https://doi.org/10.1016/j.mpdhp.2009.04.001>
- Garafutdinov, R. R., Galimova, A. A., & Sakhabutdinova, A. R. (2020). The influence of quality of primers on the formation of primer dimers in PCR. *Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids*, 39(9), 1251–1269. <https://doi.org/10.1080/15257770.2020.1803354>
- Garg, N. (2008). PCR Primer Design: DREB Genes. *Journal of Computer Science & Systems Biology*, 01(01). <https://doi.org/10.4172/jcsb.1000002>
- Kearse, M., Moir, R., Wilson, A., Stones-Havas, S., Cheung, M., Sturrock, S., Buxton, S., Cooper, A., Markowitz, S., Duran, C., Thierer, T., Ashton, B., Meintjes, P., & Drummond, A. (2012). Geneious Basic: An integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics*, 28(12), 1647–1649. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts199>
- Khaira, A., Achyar, A., Zulyusri, Z., Atifah, Y., Putri, D. H., & Violita, V. (2023). Primer Design and Optimization of Annealing Temperature for Analysis of Glutathione Reductase Gene Expression in Rice (*Oryza sativa* L.). *3BIO: Journal of Biological Science, Technology and Management*, 5(1), 142–148. <https://doi.org/10.5614/3bio.2023.5.1.3>
- Koressaar, T., & Remm, M. (2007). Enhancements and modifications of primer design program Primer3. *Bioinformatics*, 23(10), 1289–1291. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btm091>
- Puspitaningrum, R., & Chris Adhiyanto, Mb. (2018). *GENETIKA MOLEKULER DAN APLIKASINYA*.
- Rodríguez, A., Rodríguez, M., Córdoba, J. J., & Andrade, M. J. (2015). Design of Primers and Probes for Quantitative Real-Time PCR Methods. Dalam C. Basu (Ed.), *PCR Primer Design* (hlm. 31–56). Springer New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2365-6_3
- Saraswati, H., Dwi Wahyuni, F., Bioteknologi, P., Ilmu-ilmu Kesehatan, F., & Esa Unggul, U. (2019). Desain Primer Secara In Silico untuk Amplifikasi Gen cryIII dari *Bacillus thuringiensis* Isolat Lokal. Dalam *Indonesian Journal of Biotechnology and Biodiversity* (Vol. 3, Nomor 1). <http://unafold.rna.albany.edu/?q=DINAMelt>
- Shaden M. H. Mubarak, D. A. F. A.-K. O. A. R. J. M. I. Z. F. A.-Z. (2020). An Optimization and Common Troubleshooting Solving in Polymerase Chain Reaction Technique. *Systematic Reviews in Pharmacy*.
- Werdhasari Asri. (2014). *Peran Antioksidan Bagi Kesehatan*.
- Widodo, W. T. (2025). KOMPONEN, TAHAPAN DAN VARIASI POLIMERASE CHAIN REACTION: ARTIKEL REVIEW. *Jurnal Kesehatan Tambusai*, 6(1), 3350–3357. <https://doi.org/10.31004/jkt.v6i1.43342>

- 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(1), 134. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-13-134>
- You, J., & Chan, Z. (2015). Ros regulation during abiotic stress responses in crop plants. Dalam *Frontiers in Plant Science* (Vol. 6, Nomor DEC). Frontiers Research Foundation. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.01092>
- Yuniastuti, A., & Arum Sasi, F. (2015). *PENGARUH PEMBERIAN MADU KELENGKENG TERHADAP AKTIVITAS ENZIM SUPEROXIDE DISMUTASE DAN KATALASE PADA TIKUS YANG DIINDUKSI Pb Asetat*.