

Pengembangan Markah Gen NADH Dehydrogenase Subunit 2 (ND2) Spesies Spesifik untuk Deteksi Environmental DNA (eDNA) Kura-kura Rote leher Ular (*Chelodina mccordi*, Rhodin 1994) dari Sampel Air = Development of Species-Specific NADH Dehydrogenase Subunit 2 (ND2) Gene Marker for Environmental DNA (eDNA) Detection of Snake-Necked Rote Turtle (*Chelodina mccordi*, Rhodin 1994) from Water Samples

Lintang Coryawaliano, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=9999920540480&lokasi=lokal>

Abstrak

Kura-kura rote leher ular (*Chelodina mccordi*) merupakan spesies endemik dari Pulau Rote, yang tergolong Critically Endangered-Possibly Extinct in the Wild (CRPEW) berdasarkan IUCN. Rendahnya kepadatan *C. mccordi* menjadi tantangan dalam pemantauan secara visual, sehingga dibutuhkan pendekatan molekuler sebagai metode alternatif. Namun, primer spesifik untuk *C. mccordi* belum pernah dikembangkan. Penelitian dilakukan dengan mengembangkan markah genetik yang menargetkan gen ND2 mtDNA pada sampel eDNA dari air melalui metode qPCR-HRM, serta menguji sensitivitas dan spesifisitas primer. Bahan uji yang digunakan adalah air kolam *C. mccordi*, *C. expansa*, campuran (*C. mccordi* dan *C. expansa*), dan air keran. Hasil perancangan primer didapat panjang produk 179 bp dengan menganalisis basa unik yang hanya diekspresikan oleh *C. mccordi*. Analisis kualitatif dengan PCR dan visualisasi elektroforesis, serta validasi dengan sekuensing menunjukkan primer memiliki spesifisitas yang tinggi terhadap *C. mccordi*. Primer yang dirancang hanya mampu mengamplifikasi hingga dilusi 3 tingkat dengan faktor dilusi 10x. Efisiensi primer tergolong baik dengan nilai 100%, dan persamaan regresi linear ($y = -3,32x + 34,127$), serta R^2 sebesar 0,9801. Analisis HRM dilakukan untuk mendeterminasi *C. mccordi* berdasarkan suhu luruh (80—81°C). Hasil pengujian sensitivitas dan spesifisitas sebesar 81,25% dan 62,5% menunjukkan bahwa primer tidak direkomendasikan untuk analisis kuantitatif dengan qPCR-HRM. Pengembangan desain primer spesifik-spesies perlu dirancang kembali dengan gen target lain seperti COI dan Cyt-b untuk pendeteksian *C. mccordi* melalui eDNA. Meskipun demikian, primer yang dirancang tetap bisa digunakan untuk analisis kualitatif.

.....The Roti Island Snake-necked Turtle (*Chelodina mccordi*) is an endemic species of Roti Island, classified as Critically Endangered-Possibly Extinct in the Wild (CRPEW) according to the IUCN. The low density of *C. mccordi* poses a challenge for visual monitoring, necessitating a molecular approach as an alternative method. However, specific primers for *C. mccordi* have not been developed. The research involved the development of genetic marker targeting the ND2 mtDNA gene in eDNA samples from water using the qPCR-HRM method and testing the sensitivity and specificity of the primers. Test materials included water from *C. mccordi*, *C. expansa*, a mixture (*C. mccordi* and *C. expansa*), and tap water. The designed primer obtained a product length of 179-bp by analyzing unique bases specific to *C. mccordi*. Qualitative analysis with PCR and electrophoresis visualization, then validated by sequencing, showed high primer specificity for *C. mccordi*. The designed primers could only amplify up to a 3-level dilution with a 10x dilution factor. The qPCR reaction efficiency was considered good at 100%, with a linear regression equation ($y = -3.32x + 34.127$) and an R^2 of 0.9801. HRM analysis was carried out to determine *C. mccordi*

based on the melting temperature (80—81C). Sensitivity and specificity test results of 81.25% and 62.5% indicated that the primers are not recommended for quantitative analysis with qPCR-HRM. The redesign of species-specific primer with other target genes such as COI and Cyt-b for *C. mccordi* detection via eDNA is needed. Nevertheless, the designed primers can still be used for qualitative analysis.