

**DESAIN PRIMER cDNA KATALASE DAN OPTIMASI PCR UNTUK
ANALISIS EKSPRESI GEN PADA TESTIS MENCIT MODEL
DIABETES MELITUS YANG DIBERI EKSTRAK
KAYU MANIS (*Cinnamomum zeylanicum*)**

SKRIPSI



**OLEH
MUHAMMAD NAUFAL ARRAFI
NIM. 22032137/2022**

**DEPARTEMEN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI PADANG
2026**

**DESAIN PRIMER cDNA KATALASE DAN OPTIMASI PCR UNTUK
ANALISIS EKSPRESI GEN PADA TESTIS MENCIT MODEL
DIABETES MELITUS YANG DIBERI EKSTRAK
KAYU MANIS (*Cinnamomum zeylanicum*)**

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu persyaratan guna memperoleh gelar sarjana sains



Oleh:

MUHAMMAD NAUFAL ARRAFI

NIM. 22032137/2022

**DEPARTEMEN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI PADANG
2026**

PERSETUJUAN SKRIPSI

DESAIN PRIMER CDNA KATALASE DAN OPTIMASI PCR UNTUK ANALISIS EKSPRESI GEN PADA TESTIS MENCIT MODEL DIABETES MELITUS YANG DIBERI EKSTRAK KAYU MANIS (*Cinnamomum zeylanicum*)

Nama : Muhammad Naufal Arrafi
NIM/TM : 22032137/2022
Program Studi : Biologi
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Padang, 12 Mei 2026

Mengetahui:
Kepala Departemen Biologi



Dr. Dwi Hilda Putri, S.Si., M.Biomed
NIP. 197508152006042001

Disetujui oleh:
Pembimbing



Prof. Dr. Yuni Anda, S.Si, M.Si
NIP. 196906291994032004

PENGESAHAN LULUS UJIAN SKRIPSI

Nama : Muhammad Naufal Arrafi
NIM/TM : 22032137/2022
Program Studi : Biologi
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

DESAIN PRIMER CDNA KATALASE DAN OPTIMASI PCR UNTUK ANALISIS EKSPRESI GEN PADA TESTIS MENCIT MODEL DIABETES MELITUS YANG DIBERI EKSTRAK KAYU MANIS (*Cinnamomum zeylanicum*)

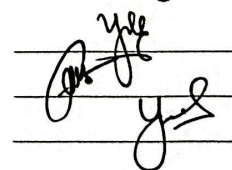
Dinyatakan lulus setelah dipertahankan di depan Tim Penguji Skripsi
Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Negeri Padang

Padang, 12 Mei 2026

Tim Penguji

	Nama
Ketua	: Prof. Dr. Yuni Ahda, S.Si, M.Si
Anggota	: Siska Alicia Farma, S.Pd, M.Biomed
Anggota	: Yusni Atifah, S.Si., M.Si

Tanda Tangan



SURAT PERNYATAAN TIDAK PLAGIAT

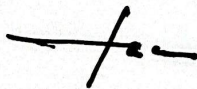
Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Muhammad Naufal Arrafi
NIM/TM : 22032137/2022
Program Studi : Biologi NK
Departemen : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Dengan ini menyatakan bahwa, skripsi saya yang berjudul “**Desain Primer cDNA Katalase dan Optimasi PCR untuk Analisis Ekspresi Gen pada Testis Mencit Model Diabetes Melitus yang Diberi Ekstrak Kayu Manis (*Cinnamomum zeylanicum*)**” adalah benar hasil karya sendiri, bukan hasil plagiat dari karya orang lain. Sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya yang dituliskan dan diterbitkan orang lain kecuali sebagai acuan atau kutipan dengan mengikuti aturan penulisan karya ilmiah yang benar.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan penuh kesadaran dan rasa tanggung jawab sebagai anggota masyarakat ilmiah.

Diketahui oleh,
Kepala Departemen Biologi



Dr. Dwi Hilda Putri, S.Si., M.Biomed.
NIP. 197508152006042001

Padang, 11 Mei 2026

Saya yang menyatakan,



Muhammad Naufal Arrafi
NIM. 22032137

**Desain Primer cDNA Katalase dan Optimasi PCR untuk Analisis
Ekspresi Gen pada Testis Mencit Model Diabetes Melitus yang
Diberi Ekstrak Kayu Manis (*Cinnamomum zeylanicum*)**

Muhammad Naufal Arrafi

ABSTRAK

Diabetes Melitus (DM) merupakan gangguan metabolik kronis yang memicu kondisi stres oksidatif sistemik, termasuk pada jaringan testis, melalui peningkatan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang signifikan. Kondisi ini sering kali menyebabkan penurunan kualitas sperma dan gangguan fertilitas pada pria. Gen katalase (CAT) memegang peranan krusial sebagai garda terdepan sistem pertahanan antioksidan seluler yang mengatalisis penguraian hidrogen peroksida (H_2O_2) menjadi air dan oksigen. Penelitian ini bertujuan untuk merancang desain primer spesifik gen CAT dan menentukan suhu penempelan (*Annealing*) yang optimal melalui teknik *gradient PCR*, guna memfasilitasi analisis ekspresi gen pada testis mencit yang diberi perlakuan ekstrak kayu manis.

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif. Tahapan penelitian dimulai dengan desain primer secara *in silico* menggunakan *software primer-BLAST* dengan referensi *accession number* NCBI NM_009804.2. Metode dilanjutkan dengan isolasi RNA total dari jaringan testis, sintesis *complementary DNA* (cDNA), serta optimasi suhu *annealing* pada rentang 50 °C hingga 60 °C. Data desain primer yang mencakup parameter fisikokimia dan struktur sekunder, serta hasil optimasi suhu dan amplifikasi cDNA gen CAT yang divalidasi melalui elektroforesis gel agarosa, dianalisis secara komprehensif untuk memastikan spesifisitas dan efisiensi amplifikasi yang optimal.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pasangan primer yang didesain (*Forward*: 5'-GATGCCATATTGTTTCCATCC-3' dan *Reverse*: 5'-GAATCCCTCGGTCACTGAAC-3') memiliki parameter bioinformatika yang sangat baik dengan panjang produk PCR sebesar 148 bp. Konsentrasi RNA total yang diperoleh berkisar antara 717,28–1214,0 ng/ μ L dengan rasio kemurnian A260/280 pada rentang 1,8–2,1, yang mengindikasikan kualitas sampel yang layak untuk tahap amplifikasi. Visualisasi menggunakan elektroforesis gel agarosa menunjukkan bahwa suhu *annealing* 56,7 °C merupakan suhu paling optimal, ditandai dengan munculnya pita DNA yang tunggal, tajam, dan memiliki intensitas cahaya yang kuat tanpa adanya kontaminasi primer-dimer atau pita non-spesifik lainnya. Dengan demikian, primer dan kondisi reaksi yang telah dioptimasi ini memenuhi kriteria validitas untuk digunakan dalam analisis kuantitatif ekspresi gen CAT pada penelitian mengenai intervensi antioksidan terhadap diabetes.

Kata kunci: Desain Primer, Diabetes Melitus, Katalase, PCR Gradien, Testis.

Catalase cDNA Primer Design and PCR Optimization for Gene Expression Analysis in Testes of Diabetes Mellitus Mice Model Treated with Cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) Extract

Muhammad Naufal Arrafi

ABSTRACT

Diabetes Mellitus (DM) is a chronic metabolic disorder that triggers systemic oxidative stress, including in testicular tissue, through significantly increased production of Reactive Oxygen Species (ROS). This condition often leads to decreased sperm quality and impaired male fertility. The catalase (CAT) gene plays a crucial role as the frontline of the cellular antioxidant defense system, catalyzing the decomposition of hydrogen peroxide (H₂O₂) into water and oxygen. This study aims to design specific primers for the CAT gene and determine the optimal annealing temperature using gradient PCR techniques to facilitate gene expression analysis in the testes of mice treated with cinnamon extract. The research phases began with in silico primer design using the Primer-BLAST tool with NCBI accession number NM_009804.2 as a reference.

The methodology continued with total RNA isolation from testicular tissue, synthesis of complementary DNA (cDNA), and annealing temperature optimization within the range of 50 °C to 60 °C. Primary design data, including physicochemical parameters and secondary structure, as well as the results of temperature optimization and cDNA amplification of the CAT gene—validated via agarose gel electrophoresis—were comprehensively analyzed to ensure optimal amplification specificity and efficiency.

The results demonstrated that the designed primer pair (Forward: 5'-GATGCCATATTGTTTCCATCC-3' and Reverse: 5'-GAATCCCTCGGTCCTGAAC-3') possessed excellent bioinformatic parameters with a PCR product length of 148 bp. The total RNA concentration obtained ranged from 717.28 to 1214.0 ng/μL, with a purity ratio (A₂₆₀/A₂₈₀) between 1.8 and 2.1, indicating high-quality samples suitable for amplification. Visualization via agarose gel electrophoresis revealed that 56.7 °C was the most optimal annealing temperature, characterized by a single, sharp DNA band with strong luminous intensity and no evidence of primer-dimers or non-specific bands. Consequently, these optimized primers and reaction conditions meet the validity criteria for use in quantitative CAT gene expression analysis in antioxidant intervention studies related to diabetes.

Keywords: Catalase, Diabetes Mellitus, Gradient PCR, Primer Design, Testes.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kehadiran Allah SWT atas limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Desain Primer cDNA Katalase dan Optimasi PCR untuk Analisis Ekspresi Gen pada Testis Mencit Model Diabetes Melitus yang Diberi Ekstrak Kayu Manis (*Cinnamomum zeylanicum*)”. Sholawat berserta salam senantiasa tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW.

Penulisan skripsi ini bertujuan untuk memenuhi salah satu persyaratan memperoleh gelar Sarjana Sains di Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Padang. Keberhasilan penulis dalam menyelesaikan skripsi ini tidak terlepas dari bimbingan dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan kali ini penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Ibu Prof. Dr. Yuni Ahda, M.Si sebagai Dosen Pembimbing penulis yang telah meluangkan waktu, tenaga dan pikiran dalam membimbing penulis, memberikan motivasi serta semangat kepada penulis dalam menyelesaikan Skripsi.
2. Ibu Yusni Atifah, S.Si., M.Si dan Ibu Siska Alicia Farma, S.Pd., M. Biomed sebagai Dosen Penguji yang telah memberikan saran dan kritikan untuk kesempurnaan penulisan skripsi ini, serta memberikan arahan dan bimbingan kepada penulis.
3. Kepada Ibu Siska Alicia Farma, S.Pd., M. Biomed selaku Dosen Penasihat Akademik yang telah memberikan nasihat, bimbingan dan motivasi selama penulis menempuh pendidikan di Departemen Biologi

4. Bapak dan Ibu staf Departemen Biologi yang telah membantu penulis untuk kelancaran penulisan skripsi.
5. Bapak Oswal Yuselman, S.Si selaku teknisi Laboratorium Terpadu UNP yang telah membantu dan membimbing penulis untuk kelancaran penelitian skripsi.
6. Ibu Kurnia Sari, A. Md. A.K selaku teknisi Laboratorium Biologi UNP yang telah membantu dan membimbing penulis untuk kelancaran penelitian skripsi.
7. Yang teristimewa terima kasih kepada orang tua yang telah berjasa dalam hidup penulis, yang selalu mengusahakan yang terbaik, selalu memanjatkan do'a agar dimudahkan dalam segala urusan hingga penulis dapat merampungkan skripsi.
8. Kepada semua pihak yang terlibat, berpartisipasi dan memberikan dukungan kepada penulis selama perkuliahan sampai menyelesaikan Skripsi.

Demikian ucapan terimakasih dari penulis, semoga bantuan yang telah Bapak/Ibu serta rekan- rekan berikan menjadi amal ibadah dan mendapat imbalan yang setimpal dari Allah SWT. Penulis berharap penulisan skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis maupun bagi semua orang yang membacanya.

Padang, 19 April 2026

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	I
ABSTRACT	II
KATA PENGANTAR	III
DAFTAR ISI	V
DAFTAR GAMBAR	VI
DAFTAR LAMPIRAN	VII
DAFTAR TABEL	VIII
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	5
C. Tujuan Penelitian	6
D. Manfaat Penelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
A. Diabetes Melitus	7
B. Kayu Manis (<i>Cinnamomum zeylanicum</i>)	8
C. Enzim Katalase	11
D. Ekspresi Enzim Katalase	12
E. PCR	14
F. Primer	16
G. Desain Primer	17
BAB III METODE PENELITIAN	20
A. Jenis Penelitian	20
B. Waktu dan Tempat	20
C. Alat dan Bahan	20
D. Prosedur Penelitian	21
E. Analisis Data	34
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	36
A. Hasil	36
B. Pembahasan	40
BAB V PENUTUP	47
A. Kesimpulan	47
B. Saran	48
DAFTAR PUSTAKA	49
LAMPIRAN	56

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Bubuk Kulit Kayu manis <i>C. zeylanicum</i>	9
2. <i>DNA Fold</i> Primer	37
3. Elektroforesis hasil optimasi suhu <i>annealing</i>	38
4. Elektroforesis hasil amplifikasi sampel menggunakan suhu optimal	39

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Pembuatan larutan sukrosa 10% dan ekstrak <i>C. zeylanicum</i>	56
2. Terminasi dan pengambilan organ testis mencit.....	56
3. Konsentrasi dan kemurnian RNA hasil isolasi RNA Total.....	57
4. Konsentrasi dan kemurnian cDNA hasil sintesis cDNA.....	58
5. Program PCR untuk optimasi suhu <i>Annealing</i> menggunakan metode <i>gradient PCR</i>	58
6. Dokumentasi program PCR untuk Amplifikasi cDNA.....	59

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Reaksi PCR yang digunakan untuk optimasi suhu <i>annealing</i>	33
2. Kondisi PCR yang digunakan untuk optimasi suhu <i>annealing</i>	33
3. Karakteristik primer yang didesain	36
4. Konsentrasi dan kemurnian sampel hasil isolasi RNA Total.....	38
5. Suhu masing-masing <i>column</i> pada proses optimasi suhu <i>Annealing</i>	38

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Diabetes melitus (DM) merupakan salah satu penyakit metabolik kronis yang prevalensinya terus meningkat secara global, termasuk di Indonesia (*American Diabetes Association*, 2021). Menurut data yang diterbitkan oleh *World Health Organization* (WHO) menunjukkan peningkatan signifikan dalam jumlah individu yang menderita diabetes secara global. Pada tahun 2022, diperkirakan sebanyak 830 juta orang mengalami diabetes, meningkat pesat dibandingkan dengan 200 juta pada tahun 1990 (*World Health Organization*, 2023). DM ditandai oleh ketidakmampuan pankreas dalam menghasilkan insulin yang memadai atau ketidakefektifan penggunaan insulin oleh tubuh, menyebabkan terjadinya hiperglikemia sehingga menimbulkan komplikasi multisistemik pada berbagai organ dan sistem tubuh, termasuk sistem reproduksi pria (*American Diabetes Association*, 2021). DM meningkatkan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) di jaringan testis, menyebabkan terjadinya stress oksidatif sehingga dapat merusak proses spermatogenesis, merusak integritas DNA sperma, hingga mengakibatkan infertilitas.

Produksi ROS yang tinggi pada testis akibat DM dapat menurunkan kapasitas antioksidan endogen seperti enzim katalase, sehingga perlindungan terhadap kerusakan oksidatif menjadi krusial untuk mempertahankan kualitas sperma (Nandi *et al.*, 2019). Dampak stres oksidatif yang meluas terhadap organ-organ tubuh serta sistem reproduksi pada penderita DM memerlukan penanganan melalui pendekatan terapi yang lebih komprehensif dan aman.

Terapi farmakologis DM umumnya menggunakan obat-obatan kimia, diantaranya adalah metformin, yang efektif menurunkan kadar glukosa darah. Namun, metformin sering menimbulkan efek samping seperti mual, muntah, diare, anoreksia, dan rasa logam di mulut (Masiani & Fauziah, 2024). Oleh karena itu, diperlukan pengembangan terapi berbasis bahan alami dengan efektivitas tinggi dan efek samping minimal. Kayu manis (*Cinnamomum* sp.) merupakan kandidat fitoterapi yang menjanjikan, karena mengandung berbagai senyawa bioaktif seperti *polifenol*, *flavonoid*, *tanin*, *saponin*, *kumarin*, dan *cinnamaldehyde* yang berperan dalam aktivitas antidiabetic, antioksidan, dan melindungi sperma dari kerusakan akibat ROS (Moniharapon *et al.*, 2023). Jenis kayu manis yang banyak diteliti sebagai pengobatan alternatif infertilitas antara lain *Cinnamon cassia* (atau yang dikenal juga dengan *Cinnamomum aromaticum*) dan *Cinnamomum zeylanicum* (Ranasinghe *et al.*, 2017).

Ekstrak herbal seperti *C. zeylanicum* telah mendapatkan perhatian besar karena potensinya sebagai agen terapeutik alami dengan aktivitas antioksidan dan antidiabetik yang kuat (Christianity *et al.*, 2021). Komponen utama minyak esensial yang diperoleh dari kulit kayu *C. zeylanicum* adalah *trans-cinnamaldehyde*, *eugenol*, dan *linalool*, yang mewakili 82,5% dari total komposisi keseluruhan (Ranasinghe *et al.*, 2013). Komponen tersebut diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang kuat, salah satunya melalui peningkatan aktivitas enzim katalase, yang merupakan salah satu enzim utama dalam sistem pertahanan antioksidan tubuh (Samapriya *et al.*, 2025).

Katalase (CAT) merupakan enzim dalam sistem pertahanan antioksidan yang mengkatalisis hidrogen peroksida (H_2O_2) menjadi air dan oksigen, sehingga

menetralkan efek toksik ROS (Fitri & Alang, 2020). Produksi enzim katalase dalam tubuh dikode oleh gen katalase (*CAT*). Gen katalase (*CAT*) pada manusia terletak pada kromosom 11p13, sedangkan pada mencit gen katalase berlokasi pada kromosom 3, lebih spesifiknya pada lengan panjang (3L) kromosom tersebut (de la Fuente-Colmenares *et al.*, 2024; Apriana *et al.*, 2015).

Penelitian yang dilakukan oleh Kodydková *et al.*, pada tahun 2014 menunjukkan bahwa regulasi ekspresi gen katalase dipengaruhi oleh berbagai faktor transkripsi, seperti PPAR γ , TNF- α , dan TP53, yang dikaitkan dengan variasi aktivitas katalase dan risiko penyakit terkait stres oksidatif. Hasil penelitian menunjukkan adanya peningkatan ekspresi katalase terjadi pada hewan percobaan yang diberi ekstrak antioksidan seperti ekstrak kulit manggis, yang membantu meningkatkan aktivitas katalase pada hati tikus yang terpapar stres oksidatif (Untari *et al.*, 2014).

Enzim katalase memiliki peran yang sangat vital dalam sistem pertahanan antioksidan seluler, khususnya dalam menguraikan hidrogen peroksida (H_2O_2) menjadi air dan oksigen sehingga mencegah akumulasi zat toksik yang dapat merusak DNA, protein, dan membran sel (Fitri & Alang, 2020). Perubahan ekspresi gen katalase berkorelasi dengan berbagai penyakit terkait stres oksidatif, seperti diabetes, kanker, dan kardiovaskular (Kodydková *et al.*, 2014; Wardana *et al.*, 2024). Berbagai studi terbaru membuktikan bahwa aktivitas dan ekspresi gen katalase dapat dimodulasi oleh ekstrak herbal dan senyawa antioksidan, sehingga menawarkan peluang pengembangan terapi baru dan pemahaman lebih dalam mengenai mekanisme perlindungan seluler (Evingelinda *et al.*, 2024).

Dalam kondisi diabetes, terjadi penurunan ekspresi gen katalase secara

signifikan pada jaringan testis yang memicu kerusakan oksidatif dan menyebabkan infertilitas pada pria (Christiany *et al.*, 2021). Selain itu, dilaporkan bahwa perubahan aktivitas katalase pada kondisi diabetes tidak selalu sejalan dengan kadar proteinnya, yang menunjukkan adanya regulasi khusus pada tingkat transkripsi maupun aktivitas enzim tersebut (Sierra-Campos *et al.*, 2020). Untuk mengatasi dampak kerusakan oksidatif tersebut, penggunaan ekstrak etanol kayu manis dapat menjadi salah satu solusi karena mampu menginduksi transkripsi gen *CAT*. Penelitian yang dilakukan oleh Mohammed (2022) membuktikan bahwa ekstrak tersebut dapat meningkatkan aktivitas katalase hingga 30-50% sehingga efektif melindungi sel dari paparan radikal bebas seperti H_2O_2 .

Pengukuran ekspresi gen katalase dilakukan dengan mengekstraksi RNA total pada testis, yang dilanjutkan dengan transkripsi terbalik (*Reverse Transcription*) untuk menghasilkan cDNA. Kuantitas cDNA katalase yang terbentuk menunjukkan besaran ekspresi gen katalase. Keberhasilan deteksi kuantitas cDNA tersebut sangat bergantung pada efisiensi proses amplifikasi, di mana desain primer menjadi tahapan awal yang fundamental dalam analisis ekspresi gen menggunakan metode PCR.

Desain primer merupakan tahapan awal yang fundamental dalam analisis ekspresi gen menggunakan metode PCR. Kualitas primer yang dirancang akan menentukan spesifisitas dan efisiensi amplifikasi gen target (Sihotang *et al.*, 2021). Desain primer yang optimal merupakan langkah krusial dalam memastikan amplifikasi gen target yang spesifik dan efisien. Teknik *in silico* berbasis *Primer-BLAST* dari NCBI telah banyak digunakan untuk mendesain primer dengan mempertimbangkan spesifisitas urutan, struktur sekunder, dan potensi

pembentukan dimer (Saraswati *et al.*, 2019).

Desain primer cDNA katalase dilakukan dengan fokus pada urutan spesifik RNA katalase mencit (NM_009804.2) dari NCBI, menggunakan perangkat lunak seperti *Genious Prime*, *Primer9*, atau *OligoAnalyzer*. Hal-hal yang harus diperhatikan dalam perancangan primer diantaranya adalah panjang primer, *melting temperature* (T_m), kandungan GC 40-60% untuk menghindari struktur sekunder yang tidak diinginkan dan ikatan di ujung 3' (Kozak, 2020). Primer yang baik memiliki panjang antara 18-30 nukleotida dan selisih T_m antara *primer forward* dan *primer reverse* sekitar 5°C (Pranata & Ahda, 2021).. Primer dengan panjang yang kurang dari 18 nukleotida akan membuat penempelan primer menjadi tidak spesifik. Primer yang baik memiliki Primer ini dirancang untuk mengamplifikasi fragmen cDNA sekitar 300 bp, dengan validasi *in silico* melalui *BLAST* untuk memastikan spesifisitas terhadap gen *CAT* tanpa amplifikasi *off-target*.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah di uraikan, maka permasalahan yang akan di kaji dalam penelitian ini sebagai berikut:

1. Bagaimana desain primer yang spesifik untuk analisis ekspresi gen katalase (CAT) pada testis mencit model diabetes melitus yang diberi ekstrak *C. zeylanicum*?
2. Bagaimana kondisi optimum primer PCR untuk amplifikasi cDNA katalase?

C. Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah, penelitian ini bertujuan untuk :

1. Merancang primer spesifik untuk analisis ekspresi gen katalase (CAT) pada testis mencit model diabetes melitus yang diberi ekstrak *C. zeylanicum*.
2. Menentukan kondisi optimum primer PCR untuk amplifikasi cDNA katalase

D. Manfaat Penelitian

Hasil Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat antara lain:

1. Memberikan kontribusi ilmiah dalam pengembangan metode analisis ekspresi gen katalase pada model hewan diabetes.
2. Mendukung pengembangan terapi berbasis herbal, khususnya *C. zeylanicum*, dalam mengatasi komplikasi diabetes pada sistem reproduksi pria.
3. Menjadi referensi bagi penelitian selanjutnya yang berkaitan dengan desain primer dan analisis ekspresi gen pada jaringan testis

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil Penelitian Mengenai Desain Primer cDNA Katalase dan Optimasi PCR untuk Analisis Ekspresi Gen pada Testis Mencit Model Diabetes Melitus yang Diberi Ekstrak Kayu Manis (*Cinnamomum zeylanicum*), maka diperoleh beberapa simpulan sebagai berikut:

1. Desain primer yang dilakukan secara *in silico* menggunakan referensi sekuens gen katalase *Mus musculus* terbukti sangat efektif dan spesifik untuk mengamplifikasi target. Pasangan primer *forward* (5'-GATGCCATATTGTTTCCATCC-3') dan *reverse* (5'-GAATCCCTCGGTCCTGAAC-3') memenuhi seluruh kriteria parameter bioinformatika yang ideal, termasuk panjang basa dan persentase kandungan GC yang seimbang. Hasil analisis menunjukkan bahwa primer ini mampu menghasilkan produk PCR tunggal sepanjang 148 bp tanpa adanya gangguan struktur sekunder seperti hairpin atau primer-dimer, sehingga sangat layak digunakan untuk analisis ekspresi gen pada tingkat molekuler.
2. Kondisi optimum untuk proses amplifikasi cDNA gen katalase berhasil ditetapkan melalui optimasi suhu penempelan (*Annealing*) dengan teknik gradien PCR pada rentang 50 °C hingga 60 °C. Hasil penelitian menunjukkan bahwa suhu 56,7 °C merupakan suhu *annealing* yang paling optimal, yang ditandai dengan munculnya pita DNA yang paling tebal, tajam, dan jernih pada visualisasi elektroforesis gel agarosa. Dengan menggunakan suhu tersebut, cDNA dari jaringan testis mencit berhasil diamplifikasi secara konsisten, menghasilkan pita monomorfik pada posisi di antara marka 100 bp

dan 150 bp, yang membuktikan validitas dan efisiensi metode ini dalam mendeteksi ekspresi gen katalase.

B. Saran

Berdasarkan hasil Penelitian Mengenai Desain Primer cDNA Katalase dan Optimasi PCR untuk Analisis Ekspresi Gen pada Testis Mencit Model Diabetes Melitus yang Diberi Ekstrak Kayu Manis (*Cinnamomum zeylanicum*), maka diperoleh beberapa saran sebagai berikut:

1. Tahapan penelitian selanjutnya sebaiknya menggunakan primer dan kondisi optimasi yang telah ditemukan untuk melakukan analisis ekspresi gen secara kuantitatif melalui metode *Real-Time PCR* (qPCR).
2. Diperlukan optimasi lebih lanjut terkait konsentrasi cDNA atau jumlah siklus PCR guna meminimalisir efek *smearing* agar diperoleh visualisasi pita DNA yang jauh lebih tajam dan jernih pada gel elektroforesis.
3. Penelitian berikutnya disarankan untuk menambah variasi dosis atau durasi pemberian ekstrak kayu manis guna melihat pengaruh yang lebih komprehensif terhadap peningkatan transkripsi gen katalase pada kondisi diabetes melitus.
4. Disarankan untuk memperluas lingkup pengujian pada organ target lainnya, seperti hati atau pankreas, untuk memahami efektivitas ekstrak kayu manis sebagai antioksidan alami secara lebih menyeluruh dalam tubuh.

DAFTAR PUSTAKA

- Achyar, A., Putri, A. I., Putri, D. H., & Ahda, Y. (2021). Primer design, in silico PCR and optimum *Annealing* temperature for *Escherichia coli* detection in refillable drinking water samples. *Tropical Genetics*, 1(2), 52–60.
- Aggarwal, S., Bhadana, K., Singh, B., Rawat, M., Mohammad, T., Al-Keridis, L. A., Alshammari, N., Hassan, M. I., & Das, S. N. (2022). *Cinnamomum zeylanicum* extract and its bioactive component cinnamaldehyde show anti-tumor effects via inhibition of multiple cellular pathways. *Frontiers in Pharmacology*, 13, 918479.
- Ahda, Y., Farma, S. A., Atifah, Y., & Efendi, J. (2023). The effectiveness crude extract of *Cinnamomum zeylanicum* to the level of GSH in mouse liver. In *3rd International Conference on Biology Science and Education*, 98-104.
- Ahda, Y., Rahma, M., Nilasari, R., & Lyrawati, D. (2025). Enhancement of superoxide dismutase gene expression in mice following the administration of cinnamon bark extract. In *BIO Web of Conference*, 154, 3007.
- Alexandrino, F., Malgarin, J. S., Krieger, M. A., & Morello, L. G. (2020). Optimized broad-range real-time PCR-based method for bacterial screening of platelet concentrates. *Brazilian Journal of Biology*, 81(3), 692-700.
- Alhumaydhi, F. A., Hina, Y., & Khan, M. A. (2025). Catalase functions and glycation: Their central roles in oxidative stress, metabolic disorders, and neurodegeneration. *Catalysts*, 15(9), 817.
- American Diabetes Association. (2021). Classification and diagnosis of diabetes: Standards of medical care in diabetes—2021. *Diabetes Care*, 44(Suppl. 1), S15–S33.
- Angelita, N. N. I. A. (2025). Peran antioksidan alami dalam menghambat stres oksidatif sebagai upaya pencegahan komplikasi diabetes melitus tipe 2: Narrative review. *Jurnal Agromedicine Unila: Jurnal Kesehatan dan Agromedicine*, 12(2), 28–35.
- Apriana, R. A., Supriyatin, S., & Rahayu, S. (2015). Pengaruh aktivitas fisik maksimal dan ekstrak daun bambu manggong (*Gigantochloa manggong*) terhadap aktivitas katalase pada hati tikus putih (*Rattus norvegicus*). *Bioma*, 11(1), 34-41.
- Aulia, N., Ahda, Y., Achyar, A., & Putri, D. H. (2023). Desain primer dan optimasi suhu *Annealing* untuk amplifikasi gen RET. *BIOSEL (Biology Science and Education): Jurnal Penelitian Science dan Pendidikan*, 12(1), 70-77.
- Azzahra, S., Merdekawati, F., Hardiana, A. T., Mulia, Y. S., & Ernawati, E.

- (2019). Optimasi volume *template* DNA dan suhu denaturasi untuk deteksi *Brugia malayi* menggunakan real-time PCR. *Jurnal Riset Kesehatan Poltekkes Depkes Bandung*, 11(2), 198–203.
- Badriyya, E., & Achyar, A. (2021, November). Primer design of SNP rs4506565 transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) gene to detect type-2 diabetes mellitus. In *Proceedings of the 2nd International Conference on Contemporary Science and Clinical Pharmacy 2021 (ICCSCP 2021)* (pp. 197–202). Atlantis Press.
- Chen, Z., Halford, N. G., & Liu, C. (2023). Real-time quantitative PCR: Primer design, reference gene selection, calculations, and statistics. *Metabolites*, 13(7), 806.
- Christianity, C., Sudrajat, S. E., & Rahayu, I. (2021). The potency of *Cinnamomum zeylanicum* to prevent diseases: A review. *Eureka Herba Indonesia*, 2(1), 49-58.
- Cordero-Pérez, P., Hernández-Cruz, F. E., Garza-Guzmán, D., Moreno-Peña, D. P., Sánchez-Martínez, C., Torres-González, L., Muñoz-Espinosa, L. E., Zapata-Chavira, H., Cura-Esquivel, I., Serrano-Sandoval, M. I., & Rodríguez-Rodríguez, D. R. (2024). Antidiabetic and anti-inflammatory effect of *Cinnamomum cassia* oil in alloxan-induced diabetic rats. *Pharmaceuticals*, 17(9), 1135.
- Corman, V. M., Landt, O., Kaiser, M., Molenkamp, R., Meijer, A., Chu, D. K., Bleicker, T., Brünink, S., Schneider, J., Schmidt, M. L., Mulders, D. G., Haagmans, B. L., van der Veer, B., van den Brink, S., Wijsman, L., Goderski, G., Romette, J. L., Ellis, J., Zambon, M., ... Drosten, C. (2020). Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveill*, 25(3), 2000045.
- Dalle, S., Abderrahmani, A., & Renard, E. (2023). Pharmacological inhibitors of β -cell dysfunction and death as therapeutics for diabetes. *Frontiers in Endocrinology*, 14, 1076343.
- de la Fuente-Colmenares, I., González, J., Sánchez, N. S., Ochoa-Gutiérrez, D., Escobar-Sánchez, V., & Segal-Kischinevsky, C. (2024). Regulation of catalase expression and activity by DhHog1 in the halotolerant yeast *Debaryomyces hansenii* under saline and oxidative conditions. *Journal of Fungi*, 10(11), 740.
- Dheda, K., Ruhwald, M., Theron, G., Peter, J., & Yam, W. C. (2021). Point-of-care diagnosis of tuberculosis: Past, present, and future. *Clinical Microbiology Reviews*, 34(3), e00153-20.
- Dong, H., Wang, S., Zhang, J., Zhang, K., Zhang, F., Wang, H., ... & Gu, L. (2021). Structure-based primer design minimizes the risk of PCR failure

- caused by SARS-CoV-2 mutations. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 11, 741147.
- Evingelinda, S., Kurniawati, E., Wulan, A. J., & Darwis, I. (2024). Efek pemberian ekstrak biji jintan hitam (*Nigella sativa*) terhadap penurunan kadar glukosa darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi streptozotocin. *Medical Profession Journal of Lampung*, 14(1), 12-19.
- Fitri, F., & Alang, H. (2020). Analisis aktivitas enzim antioksidan katalase dan peroksida. *Celebes Biodiversitas*, 3(1), 12–16.
- Gao, R., Acreman, S., Ma, J., Abdulkader, F., Wendt, A., & Zhang, Q. (2023). α -cell electrophysiology and the regulation of glucagon secretion. *Journal of Endocrinology*, 258(2).
- Garson, J. A., Grant, P. R., Ayliffe, U., Ferns, R. B., & Tedder, R. S. (2023). Real-time PCR in virology. *Nature Reviews Methods Primers*, 3(1), 1–21.
- Ghasemi-Dehnoo, M., Amini-Khoei, H., Lorigooini, Z., & Rafieian-Kopaei, M. (2020). Oxidative stress and antioxidants in diabetes mellitus. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 13(10), 431–438.
- Heit, C., Marshall, S., Singh, S., Yu, X., Charkoftaki, G., Zhao, H., Orlicky, D. J., Fritz, K. S., Thompson, D. C., & Vasiliou, V. (2017). Catalase deletion promotes prediabetic phenotype in mice. *Free Radical Biology & Medicine*, 103, 48–56.
- Ilmi, A. (2025). Desain primer secara in silico untuk amplifikasi gen TGF- β 1 dan TNF- α pada mencit (*Mus musculus*) sebagai kandidat primer dalam uji qRT-PCR. *BioWallacea: Jurnal Penelitian Biologi (Journal of Biological Research)*, 12(1), 118-128.
- Khehra, N., Padda, I. S., & Zubair, M. (2025). Polymerase chain reaction (PCR). In *StatPearls*. StatPearls Publishing.
- Knight, R., Vrbanc, A., Taylor, B. C., Aksenov, A., Callewaert, C., Debelius, J., Gonzalez, A., Kosciolk, T., McCall, L. I., McDonald, D., ... Dorrestein, P. C. (2023). Best practices for analysing microbiomes. *Nature Reviews Microbiology*, 21(7), 410–422.
- Kodydková, J., Vávrová, L., Kocík, M., & Zak, A. (2014). Human catalase, its polymorphisms, regulation and changes of its activity in different diseases. *Folia Biologica*, 60(4), 153.
- Kusnadi, J., Arumingtyas, E. L., & Hakiki, H. M. (2022). Aplikasi teknik PCR untuk autentikasi halal. Universitas Brawijaya Press.
- Masiani, W. O., & Fauziah, R. (2024). Analisis efektivitas penggunaan obat

- antidiabetik oral pada pasien diabetes mellitus tipe 2 di instalasi rawat inap RSUD Kota Kendari tahun 2021. *Jurnal Pharmacia Mandala Waluya*, 3(2), 87–99.
- Mohammed, M. T. (2022). *Cinnamomum zeylanicum* aqueous improves some oxidative stress biomarkers in diabetic type 2 induced by streptozotocin in adult male albino mice. *Egyptian Journal of Chemistry*, 65(6), 447–452.
- Moniharapon, M., Ukratalo, A. M., Pattimura, N., Samson, E., & Pangemanan, V. O. (2023). Potensi kulit batang *Cinnamomum burmannii* Bl. dalam mencegah infertilitas; Kajian terhadap berat testis dan jumlah spermatozoa mencit (*Mus musculus*) model diabetes mellitus tipe-1. *Biofaal Journal*, 4(2), 108-117.
- Muresan, M. L., & Chise, E. (2024). Chemical composition and activity of the essential oil from 25 *Cinnamomum* species: A mini-review of the literature. *Studia Universitatis "Vasile Goldis" Arad. Seria Stiintele Vietii (Life Sciences Series)*, 34(1), 26–31.
- Mutiarahmi, C. N., Hartady, T., & Lesmana, R. (2021). Kajian Pustaka: Penggunaan mencit sebagai hewan coba di laboratorium yang mengacu pada prinsip kesejahteraan hewan. *Jurnal Indonesia Medicus Veterinus*, 10(1), 134-145.
- Nagura-Ikeda, M., Imai, K., Tabata, S., Miyoshi, K., Murahara, N., Mizuno, T., Horiuchi, M., Kato, K., Imoto, Y., Iwata, M., Mimura, S., Ito, T., Tamura, K., & Kato, Y. (2020). Clinical evaluation of self-collected saliva by quantitative reverse transcription-PCR (RT-qPCR), direct RT-qPCR, reverse transcription–loop-mediated isothermal amplification, and a rapid antigen test to diagnose COVID-19. *Journal of Clinical Microbiology*, 58(9), e01438-20.
- Nandi, A., Yan, L. J., Jana, C. K., & Das, N. (2019). Role of catalase in oxidative stress- and age-associated degenerative diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019, 9613090.
- Pagliari, S., Forcella, M., Lonati, E., Sacco, G., Romaniello, F., Rovellini, P., Fusi, P., Palestini, P., Campone, L., Labra, M., Bulbarelli, A., & Bruni, I. (2023). Antioxidant and anti-inflammatory effect of cinnamon (*Cinnamomum verum* J. Presl) bark extract after in vitro digestion simulation. *Foods*, 12(3), 452.
- Pranata, A., & Ahda, Y. (2021). Desain primer untuk identifikasi gen luciferase pada kunang-kunang genus *Lamprigera* (Lampyridae: Coeloptera). In *Prosiding Seminar Nasional Biologi* (Vol. 1, No. 2, pp. 1739-1747).
- Rahma, M., & Ahda, Y. (2021). Pengaruh pemberian ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) terhadap jumlah spermatozoa pada mencit jantan (*Mus musculus* L.). *Serambi Biologi*, 6(1), 47–51.

- Ramadhanil, S., Putri, F. R., & Farma, S. A. (2023). Desain primer dan analisis in silico gen glutathione peroxidase-1 pada *Rattus norvegicus*. *Tarumanagara Medical Journal*, 5(2), 374-383.
- Ranasinghe, P., Galappaththy, P., Constantine, G. R., Jayawardena, R., Weeratunga, H. D., Premakumara, S., & Katulanda, P. (2017). *Cinnamomum zeylanicum* (Ceylon cinnamon) as a potential pharmaceutical agent for type-2 diabetes mellitus: Study protocol for a randomized controlled trial. *Trials*, 18(1), 446.
- Ranasinghe, P., Pigera, S., Premakumara, G. A., Galappaththy, P., Constantine, G. R., & Katulanda, P. (2013). Medicinal properties of 'true' cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*): A systematic review. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 13(1), 275.
- Rao, P. V., & Gan, S. H. (2021). Cinnamon: A multifaceted medicinal plant. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2021, 6633195.
- Rifza, R. (2016). Hubungan hiperglikemia dengan kadar Fe dan aktivitas katalase pada pasien diabetes melitus tipe 2 [S2 thesis, Universitas Andalas].
- Samapriya, N., Purushothama, C., Nagalaxmi, G. P., & Dsouza, V. (2025). Protective effects of *Cinnamomum zeylanicum* extract against hepatopancreatic oxidative stress in type 2 diabetic rats. *Journal of Chemical Health Risks (JCHR)*, 15(4), 1099-1117.
- Saraswati, H., Wahyuni, F. D., & Dwi, F. (2019). Desain primer secara in silico untuk amplifikasi gen cryIII dari *Bacillus thuringiensis* isolat lokal. *Indonesian Journal of Biotechnology and Biodiversity*, 3(1).
- Septiasari, N. P. S., Dwijastuti, N. M. S., Handayani, N. S., & Darmayanti, P. D. (2025). Desain primer secara in silico dan optimasi PCR untuk deteksi gen penyandi ovary ecdysteroidogenic hormone (OEH) pada nyamuk *Aedes aegypti* yang terinfeksi *Wolbachia*. *Jurnal Entomologi Indonesia*, 22(1), 9-16.
- Setyawati, R., & Zubaidah, S. (2021). Optimasi konsentrasi primer dan suhu *Annealing* dalam mendeteksi gen leptin pada sapi peranakan ongole (PO) menggunakan polymerase chain reaction (PCR). *Indonesian Journal of Laboratory*, 4(1), 36-40.
- Sihotang, M. A. E. D., Erwinda, Y. E., Suwarni, E., & Lusianti, E. (2021). Desain primer dan analisis in silico untuk amplifikasi gen mt-Co1 pada tikus got (*Rattus norvegicus*). *Eruditio: Indonesia Journal of Food and Drug Safety*, 1(2), 20–29.

- Silva, M. L., Bernardo, M. A., Singh, J., & de Mesquita, M. F. (2022). Cinnamon as a complementary therapeutic approach for dysglycemia and dyslipidemia control in type 2 diabetes mellitus and its molecular mechanism of action: A review. *Nutrients*, 14(13), 2773.
- Sindi, C., Fitriyasti, B., Mahatma, G., & Salmi, S. (2022). Penurunan kadar glukosa darah mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi hiperglikemia oleh ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.). *EKOTONIA: Jurnal Penelitian Biologi, Botani, Zoologi dan Mikrobiologi*, 7(1), 23-30.
- Thakur, S., Walia, B., & Chaudhary, G. (2021). Dalchini (*Cinnamomum zeylanicum*): A versatile spice with significant therapeutic potential. *International Journal of Pharmaceutics and Drug Analysis*, 9(2), 126–136.
- Untari, E. K., Wahdaningsih, S., & Damayanti, A. (2014). Efek fraksi n-heksana kulit *Hylocereus polyrhizus* terhadap aktivitas katalase tikus stres oksidatif. *Pharmaceutical Sciences and Research*, 1(3), 1.
- Wang, W., Cheng, Y., Chen, D., Liu, D., Hu, M., Dong, J., Zhang, X., Song, L., & Shen, F. (2019). The catalase gene family in cotton: Genome-wide characterization and bioinformatics analysis. *Cells*, 8(2), 105.
- Wardana, A. P., Kristanti, A. N., Aminah, N. S., Fahmi, M. Z., Raoov, M., & Indriani. (2024). Breast cancer chemoprevention from nano *Zingiber officinale* Roscoe. *International Journal of Nanomedicine*, 11039-11053.
- Weerasekera, A. C., Samarasinghe, K., de Zoysa, H. K. S., Bamunuarachchige, T. C., & Waisundara, V. Y. (2021). *Cinnamomum zeylanicum*: Morphology, antioxidant properties and bioactive compounds. *IntechOpen*.
- Weni, L. (2020). Analisis bioinformatika gen Cat (*Homo sapiens*): Penyandi enzim antioksidan katalase dan mutasi C330T pada diabetes melitus tipe 1. *Majalah Sainstekes*, 7(2).
- Wicaksono, N. B., Effendi, S. M., & Jiwatami, A. M. A. (2023). Pilot study: Pemanas untuk thermal cycler. *Silampari Jurnal Pendidikan Ilmu Fisika*, 5(1), 14–23.
- Wittwer, C. T., Reed, G. H., Gundry, C. N., Vandersteen, J. G., & Pryor, R. J. (2024). High-resolution genotyping by amplicon melting analysis using LCGreen. *Clinical Chemistry*, 70(1), 123–135.
- World Health Organization. (2023). Diabetes: Fact sheet.
- Xie, N. G., Wang, M. X., Song, P., Mao, S., Wang, Y., Yang, Y., Luo, J., Ren, S., & Zhang, D. Y. (2022). Designing highly multiplex PCR primer sets with simulated *Annealing* design using dimer likelihood estimation (SADDLE). *Nature Communications*, 13(1), 1881.

- Yuenleni, Y. (2019). Langkah-langkah optimasi PCR. *Indonesian Journal of Laboratory*, 1(3), 51-56.
- Yuniarti, E., & Ramadhani, S. (2023). Effect of catechins *Uncaria gambir* Roxb. on blood sugar levels of *Mus musculus* L. hyperglycemia. *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA*, 9(7), 4917-4922.
- Zhang, Y., Li, H., & Wang, L. (2021). Multiplex PCR for forensic DNA analysis: A review. *Forensic Science International: Genetics*, 52, 102456.
- Zheng, Y., Ley, S. H., & Hu, F. B. (2018). Global aetiology and epidemiology of type 2 diabetes mellitus and its complications. *Nature Reviews Endocrinology*, 14(2), 88–98.
- Živković, M., Stanisavljević, I., Gajović, N., Pavlović, S., Simović Marković, B., Jovanović, I. P., Cupara, S., Tadić, V., Žugić, A., Milenković, M. T., & Barjaktarević, A. (2025). Comprehensive phytochemical analysis and evaluation of antioxidant, antimicrobial, cytotoxic, and immunomodulatory activities of commercial cinnamon bark essential oil (*Cinnamomum zeylanicum* L.). *International Journal of Molecular Sciences*, 26(13), 6482.
- Zulfan, A., & Wonatorey, N. K. (2021). Catalase 1 gene expression (Cat-1) in hyperglycemia induced testis, as an antioxidant therapy Indicators. *Indonesian Journal of Urology*, 28(1), 53-56.