

**DNA *BARCODING* JENIS AGATHIS AREA
PT. VALE INDONESIA TBK
SOROWAKO SULAWESI SELATAN**

VERONIKA MASSENG

M021201050



**PROGRAM STUDI REKAYASA KEHUTANAN
DEPARTEMEN KEHUTANAN
FAKULTAS KEHUTANAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

**DNA *BARCODING* JENIS AGATHIS AREAL
PT. VALE INDONESIA TBK
SOROWAKO SULAWESI SELATAN**

VERONIKA MASSENG

M021201050

SKRIPSI

PROGRAM STUDI REKAYASA KEHUTANAN

pada

PROGRAM STUDI REKAYASA KEHUTANAN

DEPARTEMEN KEHUTANAN

FAKULTAS KEHUTANAN

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2024

SKRIPSI

**DNA BARCODING JENIS AGATHIS AREAL PT. VALE INDONESIA
TBK SOROWAKO SULAWESI SELATAN**

VERONIKA MASSENG

M021201050

Skripsi,

telah dipertahankan di depan Panitia Ujian yang dibentuk dalam
rangka penyelesaian Sarjana S-1 Rekayasa Kehutanan
pada Juni 2024

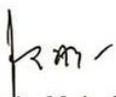
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan
pada

Program Studi Rekayasa Kehutanan
Fakultas Kehutanan
Universitas Hasanuddin
Makassar

Menyetujui,

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,


Prof. Dr. Ir. Muh. Restu, M.P.
NIP 196509041992031003


Iswanto, S.Hut., M.Si.
NIP 199303112021015001

Mengetahui,

Ketua Program Studi




Dr. Siti Halimah Larekeng, S.P., M.P.
NIP 198202092015042002

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, skripsi berjudul "DNA Barcoding Jenis *Agathis Areal* Pt. Vale Indonesia Tbk Sorowako, Sulawesi Selatan" adalah benar karya saya dengan arahan dari pembimbing (Bapak Prof. Dr. Ir. Muhammad Restu, M.P. sebagai Pembimbing utama dan Bapak Iswanto, S.Hut., M.Si. sebagai Pembimbing pendamping). Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka skripsi ini. Apabila kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan peraturan yang berlaku.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta (hak ekonomis) dari karya tulis saya berupa skripsi ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 27 Juni 2024

Yang Menyatakan



Veronika Masseng

ABSTRAK

VERONIKA MASSENG. DNA *BARCODING* JENIS AGATHIS AREAL PT. VALE INDONESIA Tbk SOROWAKO, SULAWESI SELATAN di bawah bimbingan Muhammad Restu dan Iswanto.

PT. Vale Indonesia Tbk merupakan salah satu perusahaan tambang nikel terbesar di Indonesia. Perusahaan ini menerapkan reklamasi kawasan sebagai teknik penambangan yang berkelanjutan. Konservasi keanekaragaman hayati pada lokasi tambang dapat dilakukan dengan reklamasi lahan menggunakan tanaman endemik. Tantangan dalam konservasi keanekaragaman hayati adalah identifikasi spesies yang akurat dan cepat. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi *Agathis* sp. asal PT. Vale Indonesia Tbk menggunakan penanda molekuler atau DNA *barcoding*. Metode penelitian dimulai dari tahapan isolasi DNA menggunakan DNA *genome* KIT, desain primer gen spesifik trnLF-R, amplifikasi, dan sekuensing gen spesifik, serta dianalisis menggunakan aplikasi genestudio pro, NCBI (*The National Center for Biotechnology Information*), geneious primer, dan Mega 11. Hasil penelitian menunjukkan urutan basa nukleotida *Agathis* sp memiliki kecocokan dengan *Agathis dammara* berdasarkan *percentage identity* senilai 99,52% dan pohon filogenetik yang memiliki hubungan kekerabatan dan jarak genetik yang terdekat.

Kata Kunci: *Agathis*, DNA *barcoding*, kekerabatan genetik, PT. Vale Indonesia Tbk, primer trnLF-R.

ABSTRACT

VERONIKA MASSENG. DNA BARCODING TYPE OF AGATHIS AREAL PT. VALE INDONESIA Tbk SOROWAKO, SULAWESI SOUTH under the guidance of Muhammad Restu and Iswanto.

PT. Vale Indonesia Tbk is one of the largest nickel mining companies in Indonesia. The company applies the area reclamation as a sustainable mining technique. The conservation of biodiversity at the mine site can be done by land reclamation using endemic plants. The challenge in the conservation of biodiversity is the accurate and rapid identification of species. The study aims to identify *Agathis* sp. originating in PT.Vale Indonesia Tbk using molecular markers or DNA barcoding. The research method starts from the stage of DNA isolation using the KIT DNA genomes, primary design of trnLF-R genes, amplification, and sequencing of genes specifically, and is analyzed using genestudio pro applications, NCBI (The National Center for Biotechnology Information), geneious primary, and Mega 11. The results showed that the base sequence of the nucleotides of *Agathis* sp had a correspondence with *Agathus dammara* based on a percentage identity of 99.52 per cent and a phylogenetic tree that had the closest genetic relationship of affinity and distance.

Keywords: *Agathis*, DNA barcoding, genetic affinity, primary trnLF-R, PT. Vale Indonesia Tbk.

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa atas segala berkat dan rahmat-Nya sehingga tugas akhir skripsi dengan judul “ DNA *Barcoding* Agathis Areal PT.Vale Indonesia Tbk Sorowako, Sulawesi Selatan” dapat terselesaikan dengan baik. Skripsi ini merupakan tugas akhir untuk mencapai gelar Sarjana Kehutanan pada Program Studi Rekayasa Kehutanan Fakultas Kehutanan Universitas Hasanuddin. Penulis mengucapkan berlimpah terima kasih kepada Bapak **Prof. Dr. Ir. H. Muhammad Restu, MP.** sebagai pembimbing pertama, dan Bapak **Iswanto, S.Hut. M.Si.** atas bimbingan, diskusi dan arahan selama pelaksanaan penelitian serta penulisan skripsi ini.

Penghargaan yang setinggi-tingginya kepada orangtua tercinta, Ayahanda **Yulius Yaved** dan Ibunda **Florentina** yang dengan penuh kesabaran memberikan kasih sayang, dorongan, semangat, dan doa dengan penuh keikhlasan. Serta **Gabriella Masseng, S.Kep., Ns** selaku saudari dari penulis yang telah memberikan semangat dan motivasi kepada penulis. Dengan segala kerendahan hati penulis juga mengucapkan terima kasih khususnya kepada :

1. Ibu **Siti Halimah Larekeng, S.P., M.P.** dan Ibu **Syahidah, S.Hut., M.Si., Ph.D.** selaku dosen yang telah memberikan masukan dan saran, bantuan serta koreksi dalam penyusunan skripsi.
2. Kepada Ibu **Yuni Fitri Cahyaningsih, S.P., M.Si.** yang telah membantu dan memberikan bimbingan selama penelitian dan penulisan skripsi ini sehingga dapat berjalan dengan lancar.
3. Bapak/Ibu **Dosen Fakultas Kehutanan** yang senantiasa memberikan ilmu dengan penuh rasa tanggung jawab tanpa mengenal lelah serta seluruh **Staf Fakultas Kehutanan** yang selalu melayani pengurusan administrasi selama berada di lingkungan Fakultas Kehutanan.
4. Kepada **PT. Vale Indonesia Tbk Sorowako-Sulawesi Selatan**, khususnya Bapak **AndriArdiansyah S.Hut** yang telah memberikan izin dan membantu dalam proses penelitian dilapangan.
5. **Christina Paulina S** penulis ucapkan terima kasih atas segala dukungan, motivasi, serta semangat selama 10 tahun terakhir bagi penulis.
6. **Andi Elnafilah Andida F. A, Gina Mutmainnah, Jusniar Bahtiar, Putri Nadya Salsabila,** dan **Rahna AR** selaku orang-orang yang berkesan dan kebersamaan penulis selama ini.
7. **Keluarga besar Rekhut'20** penulis ucapkan banyak terima kasih untuk segala bantuan, motivasi, suka duka di masa perkuliahan hingga masa akhir semester yang telah dilalui bersama. Secara khusus untuk **Zulfikri Basri** yang telah banyak membantu selama proses penulisan skripsi ini dan **Chery Pratiwi Irwan** yang selaku rekan kerja yang sangat membantu dalam penelitian ini.
8. **Keluarga besar Imperium 2020** atas segala dukungan dan motivasi selama perkuliahan serta proses penulisan skripsi ini.
9. **Koslet Squad** yang selama ini menghibur penulis lewat cerita-cerita yang ada dan memberikan semangat dalam proses penulisan skripsi.

10. **Kepada Veronika Masseng** selaku penulis skripsi ini, terima kasih karena selalu kuat untuk bertahan sampai di titik ini, selalu bersyukur dan libatkan Tuhan dalam setiap proses hidup.
11. Seluruh pihak yang secara langsung maupun tidak langsung telah membantu penulis dalam proses penelitian dan penulisan skripsi ini.

Makassar, 10 Juni 2024

Veronika Masseng

DAFTAR ISI

| | |
|--|--------|
| HALAMAN JUDUL | i |
| HALAMAN PENGESAHAN | viiiiv |
| PERNYATAAN KEASLIAN | viii |
| ABSTRAK..... | vi |
| KATA PENGANTAR | viii |
| DAFTAR ISI | x |
| DAFTAR TABEL | xi |
| DAFTAR GAMBAR | xii |
| DAFTAR LAMPIRAN | xiii |
| BAB I. PENDAHULUAN..... | 1 |
| 1.1 Latar Belakang | 1 |
| 1.2 Teori..... | 2 |
| BAB II. METODE PENELITIAN..... | 4 |
| 2.1 Waktu dan Tempat..... | 4 |
| 2.2 Alat dan Bahan Penelitian | 4 |
| 2.3 Prosedur Penelitian | 4 |
| 2.3.1 Pengambilan Sampel .. | 4 |
| 2.3.2 Desain Primer | 4 |
| 2.3.3 Ekstraksi dan Isolasi DNA..... | 5 |
| 2.3.4 Uji Kuantitas DNA | 6 |
| 2.3.5 Amplifikasi DNA menggunakan primer spesifik gen trnL-trnF | 6 |
| 2.3.6 Elektoroforesis | 6 |
| 2.3.7 Sekuensing Hasil PCR..... | 7 |
| 2.3.8 Analisis Data | 7 |
| BAB III. HASIL DAN PEMBAHASAN | 8 |
| 3.1 Primer Desain | 8 |
| 3.2 Uji Kuantitas DNA | 9 |
| 3.3 Amplifikasi DNA Agathis sp dengan menggunakan primer trnLF-R | 9 |
| 3.4 Filogenetik Kekerbatan Genetik | 111 |
| BAB IV. KESIMPULAN | 155 |
| 4.1 Kesimpulan | 155 |
| DAFTAR PUSTAKA..... | 166 |
| LAMPIRAN..... | 22 |

DAFTAR TABEL

| Nomor urut | Halaman |
|--|----------------|
| 1. Hasil Desain Primer trnLF-R..... | 8 |
| 2. Hasil Konsentrasi DNA <i>Agathis</i> sp..... | 9 |
| 3. Hasil Amplifikasi Primer trnLF-R pada Sampel <i>Agathis</i> | 10 |
| 4. Urutan Basa Nukleotida..... | 11 |
| 5. Sepuluh Sekuens Teratas Hasil BLAST pada Database NCBI..... | 11 |
| 6. Jarak Genetik <i>Agathis</i> sp Menggunakan Mega 11..... | 14 |

DAFTAR GAMBAR

| Nomor urut | Halaman |
|--|----------------|
| 1.Diagram Alur Penelitian..... | 7 |
| 2.Visualisasi Amplifikasi Desain Primer trnLF-R pada Sampel <i>Agathis</i> sp..... | 10 |
| 3.Pohon Filogenik Molekuler Sampel <i>Agathis</i> sp di Kawasan PT. Vale Indonesia Tbk Sorowako, Sulawesi Selatan..... | 13 |

DAFTAR LAMPIRAN

| Nomor urut | Halaman |
|---|----------------|
| 1. <i>Sequence</i> (QC) DNA Sampel AC Dengan Primer trnL-F Menggunakan Genestudio Pro..... | 23 |
| 2. Hasil BLAST Sequence Sampel AC Pada GenBank NCBI..... | 23 |
| 3. Data BLAST Dari Top Hit 10 Sequens Sampel AC di Ubah Menjadi Fasta Format Pada Geneious Primer..... | 23 |
| 4. Alignment Data Fasta Untuk Analisis Filogentik Sampel AC Menggunakan Mega 11 | 24 |
| 5. Temperatur Gradien Suhu Untuk Primer AdtrnLF..... | 24 |
| 6. Dokumentasi Pengambilan Sampel Agathis di Kawasan PT. Vale Indonesia Tbk.... | 24 |
| 7. Dokumentasi Kegiatan Penelitian DNA Barcoding Spesies Agathis di Laboratorium Bioteknologi dan Pemuliaan Pohon Universitas Hasuddin..... | 25 |

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara yang sangat kaya akan sumber daya mineralnya. Beberapa sumber daya alam seperti emas, batu bara, nikel, dan timah telah ditambang dan diperdagangkan pada pasar global selama berabad-abad (Erman, 2010). Berdasarkan data Kementerian Energi dan Sumber Daya Mineral (ESDM), pada tahun 2022 terdapat izin Usaha Pertambangan (IUP) yang telah diterbitkan seluas 24,9 juta hektar, salah satu perusahaan tambang tersebut adalah PT. Vale Indonesia Tbk.

PT. Vale Indonesia Tbk. merupakan perusahaan yang mengelolah tambang nikel dari bahan mentah menjadi produk setengah jadi (Purtomo et al. 2020). Teknik penambangan yang diterapkan pada perusahaan ini yakni *open cast mining* yang dilakukan pada elevasi yang tertinggi ke elevasi terendah. Perusahaan ini memilih teknik tersebut karena bentuk penyebaran nikel di wilayah perusahaan ini berada di lereng bukit sehingga pembuatan jenjang dengan memotong atau *cast* pada lereng bukit (Prayogo, 2020). Teknik penambangan ini berpotensi memiliki dampak terhadap kerusakan lingkungan yang berupa degradasi lahan dan pencemaran lingkungan (Iswanto et al. 2021).

Kegiatan pertambangan yang semakin tidak terkendali berdampak pada masyarakat dan kehidupan sekitar tambang, termasuk kerusakan lingkungan dan tingginya tingkat pencemaran pada tanah, air, dan udara. Praktik eksplorasi dan penambangan yang tidak berkelanjutan dapat memiliki dampak sangat serius pada lingkungan (Listiyani, 2017). Oleh karena itu, perlu diterapkan teknik penambangan yang berkelanjutan melalui kegiatan reklamasi. Hal ini dimaksudkan untuk mengembalikan kondisi semula agar dapat mendukung kehidupan (Nabila, 2022). Reklamasi lahan pertambangan bertujuan untuk meningkatkan keanekaragaman hayati, kualitas lingkungan dan ekosistem yang sesuai dengan peruntukannya seperti menanam tanaman yang bermanfaat bagi masyarakat (Parascita et al. 2015; Etshi et al. 2022).

Spesies yang sering dipilih sebagai tanaman reklamasi adalah *Agathis* sp. Spesies ini berasal dari Indonesia mulai dari Maluku dan Sulawesi khususnya di hutan – hutan Kabupaten Luwu yang menjadi jenis tanaman komersil (Renden et al. 2006). Kayu *Agathis* yang dihasilkan berguna dalam produksi pulp, kayu lapis (*plywood*), korek api, kayu pertukangan dan penghasil kopal damar (Perum Perhutani, 1974; Sulistiyowati et al. 2020). Spesies ini termasuk dalam famili *Araucariaceae* yang bagian kulit kayunya mengeluarkan getah dengan sifat yang mudah menguap dan setelah mengeras berwarna kuning pucat, bening dan transparan (Murtina et al. 2018).

Genus *Agathis* memiliki 21 spesies pohon yang selalu hijau (*evergreen tree*) (Herliyana, 2012). Identifikasi dan konservasi keanekaragaman genetik populasi sangat penting untuk dilakukan (Rimbawanto et al. 2012). Proses mengidentifikasi suatu spesies tanaman umumnya dilakukan dengan pendekatan morfologi, namun metode ini memiliki keterbatasan yang dipengaruhi oleh lingkungan dan fase perkembangan spesies (Domayti et al. 2011). Metode alternatif lainnya dalam mengidentifikasi spesies tanaman dapat dilakukan dengan pengamatan molekuler atau DNA *barcoding* (Hebert et al. 2003). DNA *barcoding* adalah metode yang digunakan untuk mempercepat dan mempermudah proses identifikasi organisme dengan menggunakan potongan gen tertentu.

Ahli taksonomi menggunakan metode molekuler, karena cepat dan murah untuk spesies yang morfologinya sulit diidentifikasi (Rimbawanto et al. 2012). Prinsip DNA *barcoding* yang menggunakan sekuen DNA pendek atau *barcode* DNA ini menghasilkan informasi tentang hubungan kekerabatan antar spesies dengan melihat konstruksi pohon filogenetiknya (Rohimah et al. 2018). Salah satu karakteristik sekuen DNA yang dapat digunakan sebagai DNA *barcode* adalah ukuran sekuen yang pendek, memungkinkan amplifikasi PCR dengan memiliki variabilitas genetik yang tinggi pada tingkat spesies dan menggunakan primer universal (Kress et al. 2007).

Kegiatan penambangan memiliki potensi untuk menyebabkan perubahan total dalam suatu ekosistem yang cukup tinggi (Allo, 2016). Seperti halnya spesies *Agathis* di areal reklamasi PT. Vale Indonesia Tbk yang masih belum teridentifikasi, maka diperlukan sebuah penelitian yang menggunakan penanda molekuler atau DNA *barcoding* untuk identifikasi pada spesies *Agathis* asal PT. Vale Indonesia Tbk Sorowako, Sulawesi Selatan. Kegunaan dari penelitian ini adalah sebagai tambahan sumber informasi tentang DNA *barcoding* dan primer spesifik pada spesies *Agathis*.

1.2 Teori

Agathis tumbuh di daerah yang memiliki ketinggian 300 – 1.500 mdpl, memiliki tinggi mencapai 55 m, panjang batang tanpa cabang antara 12 dan 25 m dan diameter 150 cm atau lebih yang bentuk batang silindris dan lurus. Tajuk berwarna hijau dengan bentuk kerucut dan percabangan mendatar melingkari batang (Siregar et al. 2023). Jenis *Agathis* yang tumbuh dengan alami dalam jumlah yang banyak hingga menjadi sumber pendapatan masyarakat yang memanfaatkan getah dari pohon *Agathis* (Siahaya et al. 2021). Genus atau kelompok tumbuhan tertentu mungkin menunjukkan kemiripan morfologi antar spesiesnya, hal tersebut membuat identifikasi menjadi lebih sulit tanpa pengetahuan mendalam tentang filogenik atau hubungan evolusioner di dalam genus (Waters, 2003).

Metode yang dapat digunakan untuk mempercepat dan mempermudah proses identifikasi organisme dengan menggunakan potongan gen tertentu adalah DNA *barcoding*. DNA *barcoding* pada setiap tanaman memiliki kelebihan dan kekurangan masing-masing, mempengaruhi dari tingkat keberhasilan yang berbeda dalam identifikasi di antara taksa yang berbeda. Kombinasi yang berbeda yang ada dari daerah DNA kandidat untuk dilakukannya *barcoding* tanaman (Chase et al. 2007). Masalah utama lainnya yang dihadapi dalam memilih kandidat *barcode* DNA tanaman yakni tingkat evolusi yang lambat, hibridisasi, infiltrasi gen, atau pemilihan garis keturunan yang kurang lengkap akhirnya menjadi penghambat identifikasi spesies (Hollingsworth et al. 2011). Perlunya tindakan penyaringan *barcode* DNA yang sesuai untuk taksa berbeda, sangat penting dalam mengatasi kompleksitas taksonomi (Tang et al. 2022).

Marker DNA *barcoding* yang disarankan untuk tanaman oleh CBOL (*Consortium for The Barcode of Life-Plant Working Group*) adalah yang memiliki nilai efisiensi diskriminasi sebanyak 72%. Perlu dilakukan pemilihan marker untuk DNA *barcoding* yang merupakan hal penting (CBOL *Plant Working Group*, 2009). Umumnya marker DNA *barcoding* yang digunakan pada suatu spesies tanaman di antaranya adalah *matK* (*maturase-K*), *rbcl* (*ribulosa-1,5-bifosfat karboksilase*), *rpoC1*, *trnL-trnF*, dan ITS. Primer yang tepat akan mengamplifikasi region *barcode* seperti yang diharapkan (Lee et al. 2016). *Consortium for The Barcoding of Life-Plant Working Group* (CBOL)

merekomendasikan gen yang terdapat dalam kloroplas untuk digunakan dalam DNA *barcoding* tumbuhan yaitu gen matK (Kress et al. 2010).

Gen matK memiliki kecepatan evolusi yang tinggi dan urutan sekuens yang lebih bervariasi (Barthet, 2006) yang memberikan penilaian bahwa matK dinilai lebih baik dan lebih akurat dalam mengidentifikasi dan membedakan suatu spesies (Kolondam, 2015). Sifat haploid dan yang dapat diwariskan secara *maternal* dimiliki oleh genom kloroplas. Kloroplas yang hanya dimiliki oleh sel tumbuhan sehingga penggunaan penanda molekuler cpDNA dapat mengurangi resiko kontaminasi dari organisme lain ketika proses isolasi DNA genom, karena kloroplas hanya dimiliki oleh sel tumbuhan saja (Singh et al. 2017). Struktur konservatif memungkinkan penggunaan informasi sekuens cpDNA untuk menganalisis filogenik tumbuhan yang belum diketahui (Wang et al. 2013). Meskipun memiliki struktur genom kloroplas yang konservatif, seperti sekuens *trnL-F intergenic spacer*, *psbA-trnH*, *trnQ-rps16*, intron gen *rpp116*, dan gen *trnL* yang merupakan beberapa gen intro pada cpDNA yang dapat memiliki laju evolusi tinggi (Sanchez et al. 2017).

Sekuens *intergenic spacer* dari daerah *trnL-F* (*trnL-F intergenic spacer*) adalah salah satu sekuens dalam cpDNA yang dapat digunakan sebagai penanda molekuler untuk menganalisis filogenik tumbuhan. Daerah non-coding pada cpDNA adalah exon dan gen *trnF* (GAA) (Abdullah et al. 2019). Sekuens *intergenic spacer trnL-F* sangat informatif dan memiliki kemampuan untuk menunjukkan hubungan filogenik tumbuhan. Dibandingkan dengan sekuens lain seperti matK dan *rbcL*, sekuens ini juga memiliki tingkat substitusi tertinggi (Chen et al. 2013). Sekuens tersebut sangat evolusioner dan mutasif, tetapi tidak diekspresikan atau tidak berperan dalam pentukan protein. Selain itu, untuk sekuens ini relatif rendah (600-1000 bp), serta mudah diamplifikasi dan dianalisis (Dong et al. 2012).

Sekuensing DNA merupakan pengurutan semua nukleotida DNA atau gen yang termasuk asam amino yang dikodekan dengan cepat. Pada dasarnya, sekuensing DNA terdiri dari reaksi *annealing*, sekuensing, dan terminasi DNA. Metode Sanger (*Sanger dideoxy sequencing*) merupakan yang metode pertama kali digunakan untuk sekuensing DNA. Metode yang digunakan ini untuk DNA *template* dan membutuhkan primer spesifik untuk reaksi sekuensing. Teknologi sekuensing Sanger serta modifikasinya mendominasi metode sekuensing selama 30 tahun (Tasma, 2015). Metode Maxam dan Gilbert menjadi metode sekuens yang kedua dengan mendegradasi fragmen DNA secara kimia (Pierce, 2016). DNA dicetak menjadi kumpulan fragmen yang panjang berbeda oleh satu basa. Urutan DNA asli diciptakan setelah fragmen dipisahkan berdasarkan ukurannya dan basisnya diidentifikasi (Rahamdani, 2017).

Hasil sekuensing dapat digunakan untuk mengetahui tingkat kemiripan urutan nukleotida DNA dengan organisme yang berbeda. Sumber DNA dari bahan yang digunakan dapat ditemukan melalui pemeriksaan menyeluruh (Mitra, 2018). Akhiran nukleotida yang beragam sesuai dengan campuran pada Dntp, dimiliki oleh untai DNA (Dewi, 2012). Hal ini menjadi kelebihan yang utama dari sekuensing DNA dengan tingkat keakuratan dan ketelitian yang mencapai lebih dari 98%. Selain itu, terdapat kekurangan pada sekuensing DNA yakni ketidakmampuan dalam mengatasi rangkaian nukleotida yang panjang (lebih dari 900 nukleotida pada fragmen DNA dalam satu reaksi) (Rahamdani, 2017).