

**OPTIMASI SUHU ANNEALING MARKA MOLEKULER SIMPLE
SEQUENCE REPEAT (SSR) UNTUK STUDI KERAGAMAN GENETIK
Aglaonema pictum (Roxb.) Kunth**

Fira Shabrina Bintang Maharani¹⁾, Muhammad Rifqi Hariri²⁾, Turhadi Turhadi^{1*)}

¹Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas
Brawijaya

Jl. Veteran, Malang 65415, Jawa Timur, Indonesia

²Pusat Riset Biosistematika dan Evolusi, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN)

Jl. Raya Bogor KM 46, Bogor 16911, Jawa Barat, Indonesia

e-mail: turhadibiologi@ub.ac.id

Abstrak

Aglaonema pictum (Roxb.) Kunth merupakan tanaman hias populer di dunia karena memiliki variasi corak warna daun. Studi tentang keragaman genetik *A. pictum* masih jarang dilakukan, sehingga upaya ini perlu dilakukan. Salah satu penanda molekuler yang dapat digunakan untuk mengetahui keragaman genetik yaitu *Simple Sequence Repeats* (SSR). Tujuan penelitian ini adalah mengidentifikasi kondisi optimum pada primer SSR untuk studi keragaman genetik *A. pictum*. Metode yang digunakan adalah pengumpulan sampel, ekstraksi DNA menggunakan *cetyltrimethylammonium bromide* (CTAB), amplifikasi DNA menggunakan primer SSR (OSR13, RM10, RM6470, OSR14, MRG2172_RT2172, MRG2153_RGP2153, RM249, RM100, dan RM7240) dengan menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) pada rentang suhu 52-54°C, 55-59°C, 47.2-50.9°C, dan 47.6-50.4°C, dan elektroforesis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dua dari sembilan primer SSR (RM249 dan RM7240) dapat diamplifikasi dengan baik pada DNA sampel *A. pictum* dengan suhu masing-masing 49,3 °C dan 52,6 °C. Sementara itu, primer OSR13, RM10, RM6470, OSR14, MRG2172_RT2172, MRG2153_RGP2153, RM100, dan MRG2881_RT2881 tidak berhasil teramplifikasi dengan baik dan spesifik pada rentang suhu *annealing* yang diujikan. Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa hanya primer RM249 dan RM7240 yang mampu menunjukkan suhu *annealing* optimum pada DNA *A. pictum*. Hasil penelitian ini dapat digunakan untuk studi keragaman genetik, khususnya pada *A. pictum*.

Kata kunci: *Aglaonema pictum*; keragaman genetik; *Simple Sequence Repeat*; suhu *annealing*

Abstract

Aglaonema pictum (Roxb.) Kunth is a popular ornamental plant in the world because its leaf color variation. Studies on the genetic diversity of *A. pictum* are still rare, so this effort needs to be done. One of the molecular markers that can be used to determine genetic diversity is *Simple Sequence Repeats* (SSR). The aim of this research was to identify the optimum conditions on SSR primers for genetic diversity studies on *Aglaonema pictum*. The methods used were sample collection, DNA extraction using *cetyltrimethylammonium bromide* (CTAB), DNA amplification using SSR primers (OSR13, RM10, RM6470, OSR14, MRG2172_RT2172, MRG2153_RGP2153, RM249, RM100, MRG2881_RT2881, and RM7240) using *Polymerase Chain Reaction* (PCR) on temperature range of 52-54°C, 55-59°C,

47.2-50.9°C and 47.6-50.4°C, and electrophoresis. The result showed that two out of nine SSR primers (RM249 and RM7240) could be amplified at 49,3 °C dan 52,6 °C, respectively. These two annealing temperatures indicated as optimum to amplify DNA sample of *A. pictum*. Meanwhile, primers OSR13, RM10, RM6470, OSR14, MRG2172_RT2172, MRG2153_RGP2153, RM100, and MRG2881_RT2881 unsuccessful amplified in all annealing temperatures tested in this study. Based on these results, it can be concluded that only primers RM249 and RM7240 were able to demonstrate an optimum annealing temperature for *A. pictum* DNA. These findings can be used for genetic diversity studies, especially in *A. pictum*.

Keywords: *Aglaonema pictum*; Annealing temperature; Genetic diversity; Simple Sequence Repeat

1. PENDAHULUAN

Aglaonema pictum (Roxb.) Kunth merupakan tanaman yang berasal dari anggota famili Araceae dikenal karena memiliki daun yang indah dan umumnya dijadikan sebagai tanaman hias (Akbar, 2021; Haryanto *et al.*, 2022). *A. pictum* berasal dari wilayah tropis Asia Tenggara. Tanaman ini sering ditemukan di hutan hujan tropis dan wilayah dengan kondisi iklim subtropis. *A. pictum* memiliki berbagai karakteristik yang unik terutama pada organ daunnya. *A. pictum* memiliki daun yang lebar, berbentuk lanset dengan corak warna yang indah seperti hijau, putih, dan kuning dengan bercak-bercak putih yang memberikan tampilan yang menarik (Yuzammi, 2018; Akbar, 2021). Variasi yang ada pada tanaman *A. pictum* ini mengindikasikan adanya keragaman genetik.

Analisis yang dilakukan untuk studi keragaman genetik tumbuhan *Aglaonema* dapat dilakukan dengan menggunakan penanda morfologi, biokimia dan molekuler. Salah satu penanda molekuler yang telah secara luas digunakan untuk studi keragaman genetik adalah *Simple Sequence Repeats* (SSR) (Vieira *et al.*, 2016; Amiteye, 2021; Umang *et al.*, 2022). SSR merupakan sekuen pendek dengan motif berulang mono-, di-, tri-, tetra-, penta- dan heksanukleotida yang melimpah, polimorfik, dan acak yang tersebar pada genom suatu organisme (Amiteye, 2021). Proses yang dilakukan untuk mempelajari keragaman genetik menggunakan marka SSR umumnya melalui beberapa tahapan utama, antara lain isolasi DNA, amplifikasi DNA menggunakan teknik PCR, elektroforesis untuk visualisasi pita, dan analisis data (Duhan *et al.*, 2023). Penelitian

yang pernah dilakukan menggunakan marka SSR, khususnya pada famili Araceae menunjukkan bahwa SSR efektif dapat digunakan dalam studi keragaman genetik (Mandal *et al.*, 2016). Selain famili Araceae, penggunaan penanda molekuler SSR juga telah digunakan untuk studi genetik padi (*Oryza sativa* L.) (Mccouch *et al.*, 2002; Kang *et al.*, 2002), Gentianaceae (Sathishkumar *et al.*, 2011), kacang bambara (*Vigna subterranea*) (Nurdianawati *et al.*, 2016), dan anggur (Pei *et al.*, 2023). Dalam studi sekuens genom kloroplas lengkap dari tiga species Aroideae (Araceae) memiliki total 165, 163 dan 133 SSR diidentifikasi dalam genom kloroplas *Colocasia gigantea*, *Caladium bicolor*, *Xanthosoma sagittifolium*. Jumlah SSR pada spesies Aroideae berkisar antara 125 sampai 187. Walaupun belum ada penelitian khusus mengenai SSR pada *Aglaonema*, penelitian-penelitian tersebut telah menunjukkan bahwa SSR dapat digunakan sebagai penanda molekuler dalam studi famili Araceae termasuk *Aglaonema* (Tian *et al.*, 2018). Berdasarkan uraian diatas maka tujuan penelitian ini adalah mengidentifikasi kondisi suhu *annealing* optimum pada primer *Simple Sequence Repeats* (SSR) yang akan digunakan untuk studi keragaman genetik *A. pictum*. Informasi dari penelitian ini sangat berguna untuk studi keragaman genetik khususnya pada *A. pictum* di Indonesia.

2. METODE PENELITIAN

2.1 Ekstraksi DNA

Daun *Aglaonema pictum* yang masih muda dan segar diambil untuk digerus menggunakan mortar dan alu dengan bantuan pasir silika sampai menjadi serbuk. Sampel yang sudah halus kemudian dimasukkan ke dalam tabung 2 ml dan ditambahkan $\pm 0,1$ gram *Polyvinylpyrrolidone* (PVP) serta 1 ml larutan *buffer* ekstraksi *Cetyltrimethyl Ammonium Bromide* (CTAB). Setelah ditambahkan dengan PVP dan larutan *buffer* CTAB lalu dihomogenkan dengan mesin *vortex* sampai tercampur dengan merata.

Tabung 2 ml berisi sampel kemudian dimasukkan ke dalam *heat block* selama

30 menit dan setiap 5 menit tabung dibolak-balik. Sampel kemudian didiamkan dalam suhu ruang selama 1 menit dan dilanjutkan dengan penambahan 700 μ l kloroform:isoamil alkohol (24:1; v/v). Setelah ditambahkan dengan kloroform:isoamil alkohol, sampel kemudian dimasukkan ke dalam *hula mixer* selama 20 menit. Sampel lalu dimasukkan ke dalam mesin sentrifugasi pada kecepatan 7.200 rpm selama 10 menit. Setelah didapatkan supernatan dan pelet dari hasil sentrifugasi lalu supernatan diambil dan dimasukkan kedalam tabung 1,5 ml. Setelah itu ditambahkan isopropanol 2/3x volum ke dalam tabung 1,5 ml yang berisi supernatan yang telah diambil pada tahap sebelumnya. Sampel kemudian dimasukkan ke dalam *freezer*. Sampel kemudian disentrifugasi pada kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit. Setelah didapatkan supernatan dan pelet dari hasil sentrifugasi lalu supernatan dibuang. Sampel kemudian dikering-anginkan dengan posisi terbalik diatas tissu kering selama 5 menit. Dilanjutkan dengan penambahan 1 ml CH_3COONa . Sampel kemudian dimasukkan kedalam *hula mixer* selama 20 menit. Setelah itu sampel disentrifugasi pada kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit. Setelah didapatkan supernatan dan pelet dari hasil sentrifugasi kemudian supernatan dibuang. Setelah itu sampel ditambahkan dengan 100 μ l TE hangat dan disimpan dalam *freezer* untuk digunakan pada tahap selanjutnya.

2.3 Optimasi Suhu Annealing Primer SSR dengan Teknik PCR

Sebanyak 9 primer SSR digunakan pada penelitian ini (Tabel 1). Sampel DNA yang berhasil diekstraksi kemudian diamplifikasi menggunakan mesin PCR dengan komposisi reaksi awal yang terdiri atas MyTaqTM HS Red Mix (Meridian Bioscience, USA) sebanyak 90 μ l, 0,5 μ l primer *forward*, 0,5 μ l primer *reverse*, dan 30 μ l DDH_2O dengan volum akhir sebanyak 121 μ l. Tabung PCR kemudian ditambahkan dengan PCR *mix* yang telah dibuat sebelumnya sebanyak 5 μ l dan sampel DNA sebanyak 1 μ l. Tabung PCR yang berisi PCR *mix* dan sampel DNA kemudian diamplifikasi dengan mesin PCR. Program PCR yang digunakan terdiri dari tahap pra-denaturasi dengan suhu 94 °C selama 5 menit, denaturasi dengan suhu 94 °C selama 30 detik, *annealing* dengan suhu 52-54 °C selama 30 detik, *extension* dengan suhu 72 °C selama 30 detik,

dan *post-extension* dengan suhu 72 °C selama 5 menit. Setelah proses amplifikasi selesai, sampel kemudian dielektroforesis dengan gel agarosa 1% pada tegangan listrik 100 volt selama 30 menit untuk mengetahui hasil amplifikasi dan profil pita DNA. Visualisasi pita DNA dilakukan menggunakan perangkat *gel documentation*.

Tabel 1. Sekuen primer yang digunakan dalam penelitian ini

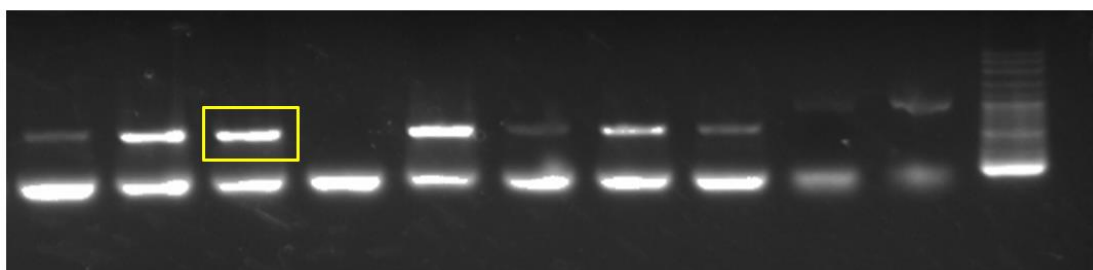
Kode	Nama Primer	Sekuen primer	Referensi
A	OSR13	F: CATTTGTGCGTCACGGAG TA R: AGCCACAGCGCCCATCTCTC	Razak et al. (2018)
B	RM10	F: TTGTCAAGAGGAGGCATCG R: CAGAATGGGAAATGGGTCC	Islam et al. (2011)
C	RM6470	F: ACCTTTGCCATGGTGGAATC R: TTATACCTTCGACGGGAACG	Luo et al. (2006)
D	OSR14	F: AAATCCGCCATGGTGGAATC R: AGGTAAACGAGCTTGAGGTG	Mccarthy et al. (2002)
E	MRG2172_RT2172	F: GCTCCATCGAATCACCTCTC R: GGGAGAGGAGACAGGGAGAG	Mccouch et al. (2002)
F	MRG2153_RGP2153	F: GGCGTAAAGGTTTTGCATGT R: ATGATGCCATGAAGGTCAGC	Kang et al. (2002)
G	RM249	F: CATGGAGAGGAAGTGGTGTT R: CTCTGATTTCTACCTCTCTC	Koleksi Peneliti
H	RM100	F: CGGAGGGAGTAAGTTGTTTG R: GATGCAACGGTGGAGATTAG	Chen et al. (1997)
I	RM7240	F: CACAAAGTTTCAAATATAGC R: GATCTCATGATAGTCACTCA	Mccouch et al. (2002)

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Keberhasilan Ekstraksi DNA *Aglaonema pictum*

Berdasarkan hasil ekstraksi DNA dan amplifikasi menggunakan primer universal *rbcL* menunjukkan adanya pita yang tebal pada DNA sampel *Aglaonema pictum* (Gambar 1). Hal ini mengindikasikan bahwa DNA *A. pictum* telah berhasil diperoleh dan siap digunakan untuk analisis selanjutnya yaitu tahap amplifikasi DNA menggunakan 10 primer *Simple Sequence Repeats*. *rbcL* dipilih karena daerah ini merupakan salah satu gen penting terutama pada tumbuhan hijau. Menurut Li *et al.* (2015) gen *rbcL* merupakan gen penyandi *ribulose 1,5-biphosphate carboxylase /oxygenase large subunit* yang merupakan enzim kunci dalam proses fotosintesis pada

tumbuhan. Selain itu, gen *rbcL* merupakan gen yang mudah dideteksi melalui proses amplifikasi pada DNA sampel. Atas dasar hal ini maka jika DNA sampel *A. pictum* menunjukkan keberhasilan mengamplifikasi daerah *rbcL* maka mengindikasikan DNA berkualitas baik dan layak digunakan untuk analisis selanjutnya.



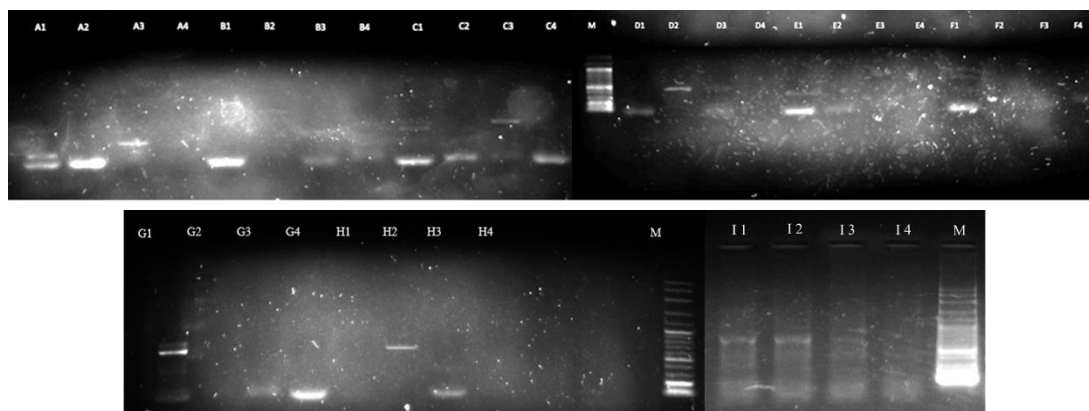
Gambar 1. Elektroforegram hasil amplifikasi sampel DNA *Aglaonema pictum* menggunakan primer *rbcL*. Keterangan: kotak warna kuning merupakan pita *rbcL*.

3.2 Optimasi Suhu Annealing Primer SSR Tahap I: Rentang Suhu 52-54 °C

Sebanyak sepuluh primer penanda molekuler SSR akan digunakan untuk mengidentifikasi keragaman genetik pada *Aglaonema pictum* (Tabel 1). Optimasi tahap pertama dilakukan pada untuk primer OSR13, RM10, RM6470, OSR14, MRG2172_RT2172, MRG2153_RGP215, RM249, RM100, RM7240 dengan suhu bertingkat dalam rentang 52-54 °C yang meliputi 52.0, 52.6, 53.6, dan 54.0 °C. Hasil optimasi tahap I menunjukkan bahwa hanya 1 dari 9 primer SSR mampu teramplifikasi pada sampel DNA *A. pictum* yaitu RM7240. Delapan primer yaitu OSR13, RM10, RM6470, OSR14, MRG2172_RT2172, MRG2153_RGP215, RM249, dan RM100 (Gambar 2) menunjukkan tidak dapat teramplifikasi pada sampel DNA *A. pictum* dalam rentang suhu 52-54 °C. Berdasarkan hasil optimasi yang dilakukan menunjukkan bahwa suhu 52,6 °C merupakan suhu optimum untuk primer RM7240.

Tidak berhasilnya DNA teramplifikasi mengindikasikan bahwa suhu *annealing* dari keenam primer SSR tersebut tidak berada dalam rentang suhu 52-54 °C, sehingga primer tidak menempel. Menurut Aprilianingsih *et al.* (2021) tahap *annealing* merupakan tahap penempelan primer pada DNA cetakan. Menempelnya primer pada

DNA cetakan disebabkan karena suhu sudah dinilai sesuai. Atas dasar ini maka suhu yang digunakan saat tahap *annealing* menjadi salah satu faktor penting yang menentukan keberhasilan proses PCR.

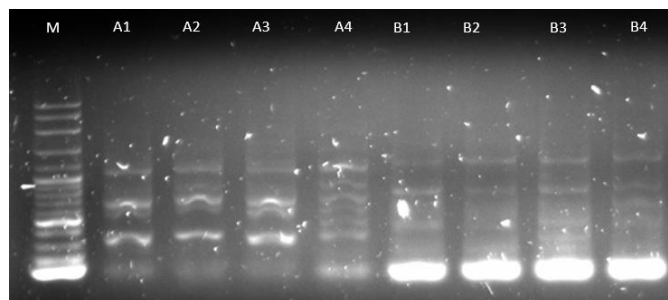


Gambar 2. Elektroforegram hasil amplifikasi DNA *Aglaonema pictum* menggunakan primer OSR13 (A), RM10 (B), RM6470 (C), OSR14 (D), MRG2172_RT2172 (E), MRG2153_RGP2153 (F), RM249 (G), RM100 (H), RM7240 (I) pada suhu 52.0 °C (Angka 1), 52.6 °C (Angka 2), 53.6 °C (Angka 3), dan 54.0 °C (Angka 4)

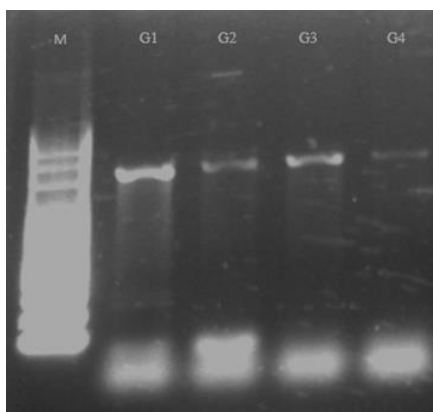
3.3 Optimasi Suhu Annealing Primer SSR Tahap II: Rentang Suhu 47.2-50.9 °C, 47.6-50.4 °C, dan 55.0-59.0 °C

Delapan primer untuk penanda molekuler SSR yang belum berhasil mengamplifikasi DNA sampel *Aglaonema pictum* pada optimasi tahap I maka dilanjutkan pada optimasi tahap II. Pada optimasi tahap II digunakan tiga macam rentang suhu yaitu 47.2-50.9 °C, 47.6-50.4 °C, dan 55.0-59.0 °C. Hasil penelitian menunjukkan bahwa primer OSR13 dan RM10 menunjukkan pita yang banyak (*multibands*) pada rentang suhu 47.2-50.9 °C yang mengindikasikan ketidakstabilan suhu *annealing* yang digunakan (Gambar 3). Menurut Sasmito *et al.* (2014) mengatakan bahwa suhu *annealing* yang tidak stabil dapat mengakibatkan polimorfisme DNA dapat menempel pada banyak tempat sehingga pita DNA yang muncul sangat banyak. Proses penempelan primer pada suhu yang terlalu tinggi dapat menyebabkan amplifikasi tidak terjadi atau dapat menyebabkan primer menempel pada banyak tempat yang berakibat dapat teramplifikasi banyak daerah yang tidak spesifik dalam genom tersebut.

Primer RM249 menunjukkan hasil yang mengamplifikasi DNA sampel *Aglaonema pictum* dengan baik pada rentang suhu 47.6-50.4 °C (Gambar 4). Berdasarkan profil pita yang muncul untuk primer RM249 mengindikasikan suhu 49,3 °C merupakan suhu optimal.



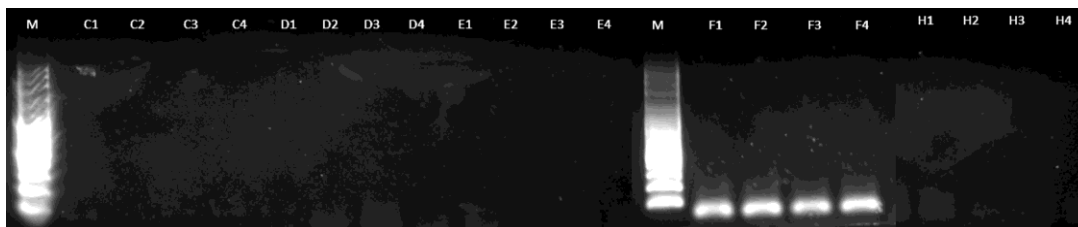
Gambar 3. Elektroforegram hasil amplifikasi DNA *Aglaonema pictum* menggunakan primer OSR13 (A) dan RM10 (B) pada suhu 47,2 °C (Angka 1), 48,5 °C (Angka 2), 49,3 °C (Angka 3), dan 50,9 °C (Angka 4)



Gambar 4. Elektroforegram hasil amplifikasi DNA *Aglaonema pictum* menggunakan primer RM249 (G) pada suhu 47,6 °C (Angka 1), 48,5 °C (Angka 2), 49,3 °C (Angka 3), dan 50,4 °C (Angka 4)

Sebanyak enam primer yang meliputi RM6470, OSR14, MRG2172_RT2172, MRG2153_RGP2153, dan RM100 dilakukan optimasi pada rentang suhu 55.0-59.0 °C. hasil optimasi menunjukkan jika enam primer tersebut tidak ada yang mampu mengamplifikasi DNA sampel *Aglaonema pictum* pada suhu yang digunakan pada rentang 55.0-59.0 °C (Gambar 5). Hal ini mengindikasikan bahwa keenam primer ini belum bisa digunakan dalam studi keragaman genetik *Aglaonema pictum*. Menurut

Nurdianawati *et al.* (2016) mengatakan bahwa keberhasilan munculnya pita DNA menggunakan marka SSR dapat disebabkan oleh beberapa faktor antara lain pemilihan primer dan suhu *annealing* yang spesifik.



Gambar 5. Elektroforegram hasil amplifikasi DNA *Aglaonema pictum* menggunakan primer RM6470 (C), OSR14 (D), MRG2172_RT2172 (E), MRG2153_RGP2153 (F), dan RM100 (H) pada suhu 55,0 °C (Angka 1), 56,2 °C (Angka 2), 57,2 °C (Angka 3), dan 59,0 °C (Angka 4)

Suhu *annealing* menjadi salah satu faktor kritis yang dapat mempengaruhi keberhasilan amplifikasi DNA menggunakan penanda molekuler SSR. Primer yang kurang spesifik dapat mengakibatkan produk amplifikasi yang tidak diinginkan seperti tidak munculnya pita DNA target. Selain itu, kualitas DNA cetakan juga menjadi faktor yang penting apabila DNA yang telah terdegradasi dapat mengurangi efisiensi amplifikasi (Pei *et al.*, 2023). Hasil penelitian ini menunjukkan jika hanya dua dari sembilan primer yang dapat direkomendasikan untuk penelitian terkait keragaman genetik *Aglaonema pictum* yaitu RM249 dan RM7240. Selanjutnya kedua primer ini dapat digunakan untuk studi keragaman genetik khususnya konservasi genetik, pemuliaan tanaman hias, maupun memperoleh varietas unggul khususnya *A. pictum*.

4. KESIMPULAN DAN SARAN

4.1 Kesimpulan

Dua dari sembilan primer untuk penanda molekuler *Simple Sequence Repeat* (SSR) menunjukkan keberhasilan mengamplifikasi sampel DNA *Aglaonema pictum* yang meliputi RM249 dan RM7240. Suhu *annealing* optimum pada sampel DNA *A. pictum* untuk primer RM249 dan RM7240 masing-masing adalah 49,3 °C dan 52,6 °C.

4.2 Saran

Perlu melakukan optimasi primer *Simple Sequence Repeat* (SSR) lainnya untuk studi keragaman genetik *Aglaonema pictum*.

5. REFERENSI

- Akbar, A. (2021). Penggunaan dan nilai ekonomi dari tanaman *Aglaonema* sp. di kalangan pedagang tanaman hias sekitar Cengkareng dan Pulo Gadung. *Jurnal Bios Logos*, 11(2), 122–128. <https://doi.org/10.35799/jbl.v11i2.34411>
- Amiteye, S. (2021). Basic concepts and methodologies Of DNA marker systems in plant molecular breeding. *Heliyon*, 7(10). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e08093>
- Aprilianingsih, R., Farhatul Wahidah, B., Rifqi Hariri, M. (2021). Optimasi suhu *annealing* marka ISSR sebagai langkah awal dalam pengejawantahan keragaman genetik *Ficus fistulosa* dan *Ficus variegata*. In P. Supendi, B. Busro, I. D. Kurniawan, W. D. ismail Aziz, & Y. Rohmatulloh (Eds.), *Gunung Djati Conference Series* (Vol. 6, p. 2021). UIN Sunan Gunung Djati. <https://conference.uinsgd.ac.id/index.php/>
- Chen, X., Temnykh, S, Xu, Y., Mccouch, S R, & Cho, Y. G. (1997). Development of a microsatellite framework map providing genome-wide coverage in rice (*Oryza sativa* L.). *Theoretical Applied Genetics*, 95, 553–567. <http://WWW.agron.missouri.edu/>
- Duhan, N., Kaur, S., & Kaundal, R. (2023). ranchSATdb: A genome-wide simple sequence repeat (SSR) markers database of livestock species for mutant germplasm characterization and improving farm animal health. *Genes*, 14(7). <https://doi.org/10.3390/genes14071481>
- Haryanto, L. I., Sukrianto, S., Achmad Maulana, F., & Ulum, M. (2022). Keragaan dan pendapatan usahatani tanaman hias aglaonema di masa *new normal*. In A. I. Ramadhan (Ed.), *Prosiding Seminar Nasional Penelitian LPPM UMJ* (pp. 2–11). LPPM Universitas Muhammadiyah Jakarta. <http://jurnal.umj.ac.id/index.php/semnaslit>
- Islam, M. M., Hoque, M. E., Rabbi, S. M. H. A., & Ali, M. S. (2011). DNA fingerprinting and diversity analysis of BRRI hybrid varieties and their corresponding parents. *Plant Tissue Culture and Biotechnology*, 21(2), 189–198.
- Kang, H.-W., Park, D.-S., Go, S.-J., & Eun, M.-Y. (2002). Fingerprinting of diverse genomes using PCR with universal rice primers generated from repetitive sequence of korean weedy rice. *Molecules and Cells*, 13(2), 281–287.
- Li, X., Yang, Y., Henry, R. J., Rossetto, M., Wang, Y., & Chen, S. (2015). Plant DNA barcoding: from gene to genome. In *Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society* (Vol. 90, Issue 1, pp. 157–166). <https://doi.org/10.1111/brv.12104>
- Luo, H., Li, Y., Yang, Z., Zhong, B., Xie, R., Ren, M., Luo, D., & He, G. (2006). Fine mapping of a *pistilloid-stamen* (PS) gene on the short arm of chromosome 1 in rice.

- Genome*, 49(8), 1016–1022. <https://doi.org/10.1139/G06-056>
- Mandal, R., Nag, S., Tarafdar, J., & Mitra, S. (2016). A comparison of efficiency parameters of SSR markers and genetic diversity analysis in *Amorphophallus paeoniifolius* (Dennst.) Nicolson. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 59, 1–7. <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2016160439>
- Mccarthy, E. M., Liu, J., Lizhi, G., & Mcdonald, J. F. (2002). Long terminal repeat retrotransposons of *Oryza sativa*. *Genome Biology*, 3(10), 1–11. <http://genomebiology.com/2002/3/10/research/0053.1>
- Mccouch, S. R., Teytelman, L., Xu, Y., Lobos, K. B., Clare, K., Walton, M., Fu, B., Maghirang, R., Li, Z., Xing, Y., Zhang, Q., Kono, I., Yano, M., Fjellstrom, R., Declerck, G., Schneider, D., Cartinhour, S., Ware, D., & Stein, L. (2002). Development and mapping of 2240 new SSR markers for rice (*Oryza sativa* L.). In *DNA Research* (Vol. 9). <http://rgp.dna.affrc.go.jp/cgi-bin/>
- Nurdianawati, S., Wicaksana, N., & Anas, D. (2016). Analisis kesesuaian marka SSR (*Simple Sequence Repeats*) untuk identifikasi keragaman genetik pada kacang bambara Asal Jawa Barat. *Jurnal Agrikultura*, 27(2), 120–123.
- Pei, D., Song, S., Kang, J., Zhang, C., Wang, J., Dong, T., Ge, M., Pervaiz, T., Zhang, P., & Fang, J. (2023). Characterization of simple sequence repeat (SSR) markers mined in whole grape genomes. *Genes*, 14(3). <https://doi.org/10.3390/genes14030663>
- Razak, S. A., Saidon, S. A., Yusof, M. F. M., & Ismail, S. N. (2018). Genetic characterization and analysis of the population of selected sarawak rice cultivars using simple sequence repeat markers. *Biotechnologia*, 99(3), 205–214. <https://doi.org/10.5114/bta.2018.77481>
- Sasmito, D. K. E., Kurniawan, R., & Muhimmah, I. (2014). Karakteristik primer pada polymerase chain reaction (PCR) untuk sekuensing DNA: mini review. *Seminar Nasional Informatika Medis (SNIMed) V*, 93–102.
- Sathishkumar, R., Lakshmi, P. T. V., Annamalai, A., & Arunachalam, V. (2011). Mining of simple sequence repeats in the genome of Gentianaceae. *Pharmacognosy Research*, 3(1), 19–29. <https://doi.org/10.4103/0974-8490.79111>
- Tian, N., Han, L., Chen, C., & Wang, Z. (2018). The complete chloroplast genome sequence of *Epipremnum aureum* and its comparative analysis among eight Araceae species. *PLoS ONE*, 13(3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0192956>
- Umang, U., Bharti, P. K., & Husain, A. (2022). Bibliometric analysis of research aspects of simple sequence repeats in cultivars. *International Journal of Health Sciences*, 7922–7933. <https://doi.org/10.53730/ijhs.v6ns4.11756>
- Vieira, M. L. C., Santini, L., Diniz, A. L., & Munhoz, C. de F. (2016). Microsatellite markers:

What they mean and why they are so useful. In *Genetics and Molecular Biology*. 39(3), 312–328. <https://doi.org/10.1590/1678-4685-GMB-2016-0027>