

**KARAKTERISASI MORFOLOGI DAN OPTIMASI PRIMER INTER SIMPLE SEQUENCE REPEATS (ISSR) UNTUK STUDI AWAL KERAGAMAN GENETIK *Syzygium zeylanicum* (L.)*****Morphological Characterization and Optimization of Inter Simple Sequence Repeats (ISSR) Primers for Initial Study of Genetic Diversity of *Syzygium zeylanicum* (L.)***Ahmad Muwaffiq Faza<sup>1</sup>, Irfan Martiansyah<sup>2</sup>, Turhadi Turhadi<sup>1\*</sup><sup>1</sup>Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya, Malang<sup>2</sup>Pusat Riset Botani Terapan, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN), Bogor

\*Email: turhadibiologi@ub.ac.id

**Abstract**

*Syzygium zeylanicum* (Myrtaceae) is a species that grows in the Indo-Malayan region. Different growing environments for *S. zeylanicum* can influence morphological characteristics and reflect genetic diversity. The objective of this study was to describe the morphological characteristics of *S. zeylanicum* and optimize Inter Simple Sequence Repeats (ISSR) primers as an initial step toward studying the genetic diversity of *S. zeylanicum*. This study was conducted by collecting *S. zeylanicum* samples from the Bogor Botanical Garden at six locations: V.B.84, V.B.84a, II.Q.87, II.Q.87a, V.C.54a, and V.C.97a. Leaf and branch samples were collected for morphological characterization. DNA isolation was performed using 2% CTAB. Optimization was performed for 12 ISSR primers (ISSR1, ISSR2, ISSR3, ISSR4, ISSR5, ISSR6, ISSR7, ISSR8, ISSR9, ISSR10, ISSR11, and ISSR12) with annealing temperature ranges of 52 – 54 °C, 52.1 – 53.1 °C, 55 – 58 °C, and 45 – 50 °C. Characterization showed that *S. zeylanicum* leaves are simple, lanceolate, caudate tips, aequilateral bases, entire margins, brochidodromous venation, opposite leaf arrangement, petiole attachment, abaxially glabrous, and adaxially lustrous. The leaf length, leaf width, and branch diameter of *S. zeylanicum* ranged from 6 – 8.7 cm, 2.3 – 3.03 cm, and 1.45 – 1.96 cm, respectively. In addition, 11 of the 12 ISSR primers successfully obtained optimal annealing temperatures, including ISSR1 (57.7 °C), ISSR2 (52.8 °C), ISSR3 (56.6 °C), ISSR5 (52.7 °C), ISSR6 (52.9 °C), ISSR7 (47.8 °C), ISSR8 (47.8 °C), ISSR9 (52.6 °C), ISSR10 (53.0 °C), ISSR11 (49.7 °C), and ISSR12 (49.0 °C). Only ISSR4 primer did not produce DNA bands after optimization at all temperature ranges used.

**Keywords:** *Annealing Temperature; Inter Simple Sequence Repeats; Syzygium zeylanicum***Abstrak**

*Syzygium zeylanicum* (Myrtaceae) merupakan spesies yang tumbuh di kawasan Indo-Malaya. Lingkungan tumbuh *S. zeylanicum* yang berbeda dapat mempengaruhi karakter morfologi dan mencerminkan adanya keragaman genetik. Tujuan penelitian ini adalah untuk mendeskripsikan karakter morfologi *S. zeylanicum* dan optimasi primer *Inter Simple Sequence Repeats* (ISSR) sebagai langkah awal untuk studi keragaman genetik *S. zeylanicum*. Penelitian ini dilakukan dengan mengambil sampel *S. zeylanicum* koleksi Kebun Raya Bogor pada enam lokasi, yaitu vak V.B.84, V.B.84a, II.Q.87, II.Q.87a, V.C.54a, dan V.C.97a. Sampel daun beserta ranting diambil untuk karakterisasi morfologi. Isolasi DNA dilakukan dengan CTAB 2%. Optimasi dilakukan untuk 12 primer ISSR (ISSR1, ISSR2, ISSR3, ISSR4, ISSR5, ISSR6, ISSR7, ISSR8, ISSR9, ISSR10, ISSR11, dan ISSR12) dengan rentang suhu annealing 52 – 54 °C, 52,1 – 53,1 °C, 55 – 58 °C, dan 45 – 50 °C. Hasil karakterisasi menunjukkan daun *S. zeylanicum* bertipe tunggal, bangun daun lanceolate, ujung daun caudate, pangkal daun aequilateral, tepi daun entire, venasi brochidodromous, tata letak daun opposite, perlekatan petiolate, permukaan abaksial glabrous, dan permukaan adaksial lustrous. Panjang daun, lebar daun, dan diameter ranting *S. zeylanicum* yang didapatkan masing-masing berkisar antara 6 – 8,7 cm, 2,37 – 3,03 cm, dan 1,45 – 1,96 cm. Selain itu, sebanyak 11 dari 12 primer ISSR berhasil didapatkan suhu optimal untuk suhu *annealing*, antara lain ISSR1 (57,7 °C), ISSR2 (52,8 °C), ISSR3 (56,6 °C), ISSR5 (52,7 °C), ISSR6 (52,9 °C), ISSR7 (47,8 °C), ISSR8 (47,8 °C), ISSR9 (52,6 °C), ISSR10 (53,0 °C), ISSR11 (49,7 °C), dan ISSR12 (49,0 °C). Hanya primer ISSR4 yang tidak memunculkan pita DNA setelah dilakukan optimasi pada semua rentang suhu yang digunakan.

**Kata Kunci:** *Annealing Temperature, Inter Simple Sequence Repeats; Syzygium zeylanicum*

## PENDAHULUAN

Kebun Raya Bogor memiliki berbagai koleksi flora, salah satunya adalah tanaman pada suku Myrtaceae. Kebun Raya Bogor memiliki 460 tanaman Myrtaceae pada tahun 2019, yang terdiri dari 23 genus dan 96 spesies. Salah satu spesies koleksi Kebun Raya Bogor yang tergolong Myrtaceae adalah *Syzygium zeylanicum* (Martiansyah, 2020). *S. zeylanicum* merupakan tumbuhan yang tersebar di wilayah Indo-Malaya dan beberapa wilayah di India. Tumbuhan ini memiliki habitus berupa pohon berukuran sedang. Buahnya berwarna putih ketika matang dengan daging buah yang tebal (Shilpa & Krishnakumar, 2015; Sharanya et al., 2021). Tumbuhan ini di Indonesia dikenal sebagai jambu nasinasi, khususnya oleh masyarakat Sumatera dan Bangka Belitung. Tumbuhan ini dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai obat-obatan, seperti diare, sakit kepala, hipertensi, diabetes, dan juga demam (Mayasani et al., 2019; Sintia et al., 2023).

*S. zeylanicum* koleksi Kebun Raya Bogor berasal dari lokasi yang berbeda-beda. Perbedaan lingkungan tumbuh dari suatu tanaman dapat berpengaruh terhadap perbedaan morfologi dan mencerminkan keragaman genetik (Kustanto, 2023; Pacheco-Hernandez et al., 2021). Oleh karena itu, *S. zeylanicum* koleksi Kebun Raya Bogor perlu dianalisis keragaman genetiknya guna mendapatkan informasi terkait karakter spesifik dari genotipe tumbuhan tersebut. Informasi tersebut digunakan untuk mengetahui jarak antar genotipe sebagai acuan dalam pemuliaan tanaman (Sari et al., 2017). Selain itu, informasi tersebut dapat digunakan untuk menentukan metode konservasi yang efektif. Hal ini terkait dengan genotipe tanaman tertentu memiliki kemampuan yang lebih baik untuk beradaptasi terhadap perubahan lingkungan (Nilkanta et al., 2017).

Keragaman suatu tumbuhan dapat dianalisis secara konvensional dengan karakterisasi morfologi. Penggunaan karakter morfologi dalam studi keragaman suatu tumbuhan relatif lebih cepat dan mudah untuk dilakukan. Namun, karakterisasi morfologi memiliki beberapa kekurangan, antara lain karakter morfologi bersifat tidak konsisten karena dapat dipengaruhi oleh lingkungan, dibutuhkan keahlian tertentu dalam karakterisasi morfologi agar tidak terjadi kesalahan, dan karakter ini hanya efektif jika diamati pada tahap perkembangan (Sari et al., 2017; Martiansyah, 2021). Oleh karena itu, diperlukan penggunaan marka molekuler guna mengatasi kekurangan pada karakterisasi morfologi.

Marka molekuler berbasis DNA memiliki tingkat akurasi yang tinggi dalam studi keragaman genetik. Salah satu marka molekuler yang dapat digunakan untuk studi keragaman genetik adalah *Inter Simple Sequence Repeats* (ISSR), yaitu suatu sekuens yang berada di antara dua mikrosatelit dan merupakan daerah *non-coding* atau tidak mengkode suatu protein (Sari et al., 2017). Penggunaan marka ISSR dalam studi keragaman genetik sudah banyak dilakukan, seperti pada bawang merah (*Allium cepa*), bambu (*Melocanna baccifera*), jeruk siam (*Citrus suhuniensis*), dan semangka kuning (*Citrullus lanatus*) (Agisimanto et al., 2007; Nilkanta et al., 2017; Sari et al., 2017; Salsabila et al., 2020). Marka ISSR juga telah digunakan untuk studi keragaman genetik pada spesies anggota suku Myrtaceae, yaitu *Myrcia laruotteana* (Lima et al., 2015) dan *Syzygium cumini* (Khan et al., 2023).

Marka ISSR dapat digunakan untuk studi keragaman genetik yang melibatkan proses *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Salah satu hal yang berpengaruh terhadap keberhasilan PCR adalah *annealing*, dimana proses tersebut dipengaruhi oleh suhu. Suhu *annealing* merupakan suhu bagi primer untuk menempel pada cetakan DNA. Suhu *annealing* yang terlalu tinggi menyebabkan primer tidak dapat menempel pada *annealing site*, sedangkan suhu yang terlalu rendah menyebabkan primer menempel pada tempat yang tidak spesifik (Rychlik et al., 1990; Silalahi et al., 2021). Oleh karena itu, suhu *annealing* yang optimal perlu didapatkan agar produk PCR dapat dihasilkan dengan baik. Penelitian ini bertujuan untuk mendeskripsikan karakter morfologi *S. zeylanicum* dan mendapatkan suhu *annealing* yang optimal bagi primer *Inter Simple Sequence Repeats* (ISSR) yang dapat digunakan untuk studi keragaman genetik *S. zeylanicum*.

## METODE

### Pengambilan Sampel dan Karakterisasi Morfologi

*Syzygium zeylanicum* yang digunakan sebagai sampel merupakan tanaman koleksi Kebun Raya Bogor. Daun dan ranting *S. zeylanicum* diambil dari 6 lokasi atau vak yang berbeda (Tabel 1). Sebagian sampel

diberi label dan disimpan sebagai herbarium kering, sedangkan sisanya digunakan untuk ekstraksi DNA. Herbarium kering dari sampel digunakan untuk karakterisasi morfologi berdasarkan *Plant Identification Terminology* (2001) dan *The Kew Plant Glossary* (2010). Parameter yang diamati antara lain tipe daun, bangun daun, ujung daun, pangkal daun, tepi daun, venasi, tata letak daun, perlekatan daun, permukaan abaksial, permukaan adaksial, panjang daun, lebar daun, dan diameter ranting.

**Tabel 1.** Lokasi Sampel *S. zeylanicum*

Lokasi (Vak)	Asal
V.B.84	Sumatera
V.B.84a	
II.Q.87	Sumatera: Bengkulu
II.Q.87a	
V.C.54a	Sumatera
V.C.97a	

### Isolasi DNA

Isolasi DNA dilakukan menggunakan organ daun dengan metode CTAB 2%. Daun digerus menjadi bubuk dengan bantuan pasir silika. Sampel kemudian dimasukkan ke dalam tabung 2 mL, lalu ditambahkan PVP dan *buffer* CTAB 1 ml. Sampel dihomogenkan, lalu diinkubasi selama 25 menit pada suhu 60 °C. Kemudian, 700 µl kloroform:isoamil alkohol (1:1; v/v) ditambahkan ke dalam sampel. Kemudian, sampel dihomogenasi menggunakan bantuan *hula mixer* selama 20 menit. Lalu, sampel disentrifugasi pada kecepatan 7200 rpm selama 10 menit. Supernatan hasil sentrifugasi dipindahkan ke dalam tabung 1,5 ml dan ditambahkan dengan isopropanol dingin sebanyak 2/3 volume supernatan. Sampel kemudian disentrifugasi pada kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit. Supernatan hasil sentrifugasi dibuang hingga tersisa pelet. Setelah itu, 1 mL *washing buffer* ditambahkan ke dalam tabung, lalu diinkubasi pada suhu ruang dengan *hula mixer* selama 20 menit. Sampel disentrifugasi kembali pada kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit. Supernatan hasil sentrifugasi dibuang. Lalu, 100 µl *buffer* TE ditambahkan ke dalam tabung dan dihomogenkan.

### Optimasi Primer ISSR

Hasil ekstraksi kemudian diamplifikasi dengan teknik PCR menggunakan primer *rbcl* untuk mengkonfirmasi keberadaan DNA. DNA digunakan sebagai cetakan untuk optimasi 12 primer ISSR (Tabel 2) dengan teknik PCR. Program PCR yang dijalankan terdiri dari denaturasi awal selama 5 menit dengan suhu 94 °C. Kemudian dilanjutkan dengan 35 siklus yang terdiri dari denaturasi selama 30 detik pada suhu 94 °C, *annealing* selama 30 detik dengan suhu yang bervariasi, dan ekstensi selama 30 detik dengan suhu 72 °C. Rentang suhu yang digunakan untuk *annealing* antara lain 52 – 54 °C, 52,1 – 53,1 °C, 55 – 58 °C, dan 45 – 50 °C. Program diakhiri dengan ekstensi akhir selama 5 menit dengan suhu 72 °C. Elektroforesis hasil optimasi dilakukan menggunakan gel agarosa 1% dengan TAE 1x. Proses elektroforesis dilakukan selama 45 – 60 menit. Hasil elektroforesis kemudian divisualisasikan pada perangkat *Gel Documentation UV-Vis Transillumination*.

**Tabel 2.** Primer ISSR yang Digunakan untuk Optimasi

Primer	Sekuen (5' → 3')	T <sub>m</sub> (°C)	Referensi
ISSR1	TGA GAG AGA GAG AGA GAG A	50,2	Bisoyi <i>et al.</i> (2010)
ISSR2	CTC TCT CTC TCT CTC TT	45,7	Hartanti <i>et al.</i> (2019)
ISSR3	GTG TGT GTG TGT GTG TA	49,4	Yogurtcu & Aygun. (2021)
ISSR4	GTG TGT GTG TGT GTG TT	50,3	Yogurtcu & Aygun. (2021)
ISSR5	AGA GAG AGA GAG AGA GT	47,0	Khajudparn <i>et al.</i> (2012)
ISSR6	AGA GAG AGA GAG AGA GC	48,8	Khajudparn <i>et al.</i> (2012)
ISSR7	ACA CAC ACA CAC ACA CT	51,4	Khajudparn <i>et al.</i> (2012)
ISSR8	AGA GAG AGA GAG AGA GTC	48,6	Gaponenko <i>et al.</i> (2021)
ISSR9	AGA GAG AGA GAG AGA GYA	48,9	Khajudparn <i>et al.</i> (2012)
ISSR10	GAG AGA GAG AGA GAG AYC	48,5	Khajudparn <i>et al.</i> (2012)
ISSR11	CAC ACA CAC ACA CAC ARC	53,1	Khajudparn <i>et al.</i> (2012)
ISSR12	ACA CAC ACA CAC ACA CYG	54,3	Khajudparn <i>et al.</i> (2012)

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Karakterisasi Morfologi

*Syzygium zeylanicum* yang diamati merupakan tanaman koleksi Kebun Raya Bogor yang berada pada vak V.B.84, V.B.84a, II.Q.87, II.Q.87a, V.C.54a, dan V.C.97a. *S. zeylanicum* memiliki perawakan pohon dengan batang berkayu. Namun, morfologi yang diamati pada *S. zeylanicum* hanyalah daun dan ranting. Hal ini dikarenakan seluruh *S. zeylanicum* koleksi Kebun Raya Bogor tidak memunculkan organ-organ generatif seperti bunga, buah, dan biji. Hasil karakterisasi menunjukkan bahwa seluruh *S. zeylanicum* memiliki karakter kualitatif daun yang serupa (Gambar 1). Daun *S. zeylanicum* bertipe tunggal, bangun daun lanset (*lanceolate*), ujung daun *caudate*, pangkal daun *aequilateral*, tepi daun rata (*entire*), venasi *brochidodromous*, tata letak daun berlawanan (*opposite*), perlekatan *petiolate*, permukaan abaksial *glabrous*, dan permukaan adaxial *lustrous*. Namun, terdapat variasi pada karakter kuantitatif, meliputi panjang daun, lebar daun, dan diameter ranting. Panjang daun *S. zeylanicum* berkisar 6 – 8,7 cm, lebar daun berkisar 2,37 – 3,03 cm, dan diameter ranting berkisar 1,45 – 1,96 mm.



**Gambar 1.** Morfologi Daun *Syzygium zeylanicum*; A) V.B.84, B) V.B.84a, C) II.Q.87, D) II.Q.87a, E) V.C.54a, F) V.C.97a

**Tabel 3.** Karakter dan Ukuran Daun *Syzygium zeylanicum*

Vak	Panjang Daun (cm)	Lebar Daun (cm)	Diameter Ranting (mm)	Karakter
V.B.84	7,10±1,10	2,97 ± 0,15	1,47 ± 0,13	
V.B.84a	8,70±0,79	3,03 ± 0,29	1,96 ± 0,23	Tipe daun: tunggal Bangun daun: lanset ( <i>lanceolate</i> ) Ujung daun: <i>caudate</i>
II.Q.87	7,80±0,44	2,37 ± 0,31	1,66 ± 0,23	Pangkal daun: <i>Aequilateral</i> Tepi daun: rata ( <i>entire</i> )
II.Q.87a	6,00±1,05	2,50 ± 0,30	1,48 ± 0,27	Venasi: <i>brochidodromous</i> Perlekatan: <i>petiolate</i>
V.C.54a	6,47±0,31	2,50 ± 0,30	1,45 ± 0,29	Tata letak daun: <i>opposite</i> Permukaan adaksial: <i>lustrous</i> Permukaan abaksial: <i>glabrous</i>
V.C.97a	7,07±0,42	2,83 ± 0,45	1,92 ± 0,20	

Temuan serupa juga melaporkan adanya variasi morfologi pada karakter kuantitatif *S. zeylanicum*. Perera & Dissanayake (2023), melaporkan adanya variasi morfologi pada 24 pohon *S. zeylanicum* yang

ditemukan pada wilayah Belihuloya, Sri Lanka. Panjang daun *S. zeylanicum* yang dilaporkan pada temuan tersebut berkisar 4,94 – 7,30 cm, sedangkan lebar daun *S. zeylanicum* yang dilaporkan pada temuan tersebut berkisar 0,75 – 1,27 cm. Panjang dan lebar daun *S. zeylanicum* dalam temuan tersebut cenderung lebih kecil jika dibandingkan dengan temuan dalam penelitian ini.

Variasi yang ditemukan pada karakter kuantitatif *S. zeylanicum* dapat disebabkan karena lingkungan tumbuh yang berbeda. Variasi ini terjadi akibat plastisitas fenotipik sebagai respon yang muncul terhadap perbedaan lingkungan (Patten & Boyer, 2023). Berbagai faktor telah dilaporkan berpengaruh terhadap variasi morfologi pada tanaman, seperti ketinggian, intensitas cahaya, karakter fisikokimia tanah, temperatur, kecepatan angin, kelembapan relatif, curah hujan, dan lain sebagainya (Perez-Nicolas *et al.*, 2021). Alcantara-Ayala *et al.* (2020), melaporkan *Ternstroemia lineata* yang berhabitat di lingkungan dengan suhu yang lebih tinggi dan curah hujan musiman memiliki daun yang lebih panjang. Keberadaan polutan pada lingkungan juga dilaporkan menjadi faktor penyebab munculnya variasi morfologi. Basar *et al.* (2025), melaporkan beberapa tumbuhan meliputi *Nelumbo nucifera*, *Eichhornia crassipes*, *Trapa natans*, dan *Pistia stratiotes* yang tumbuh pada area berpolusi mengalami penurunan panjang akar, pucuk, dan daun dibandingkan dengan kontrol.

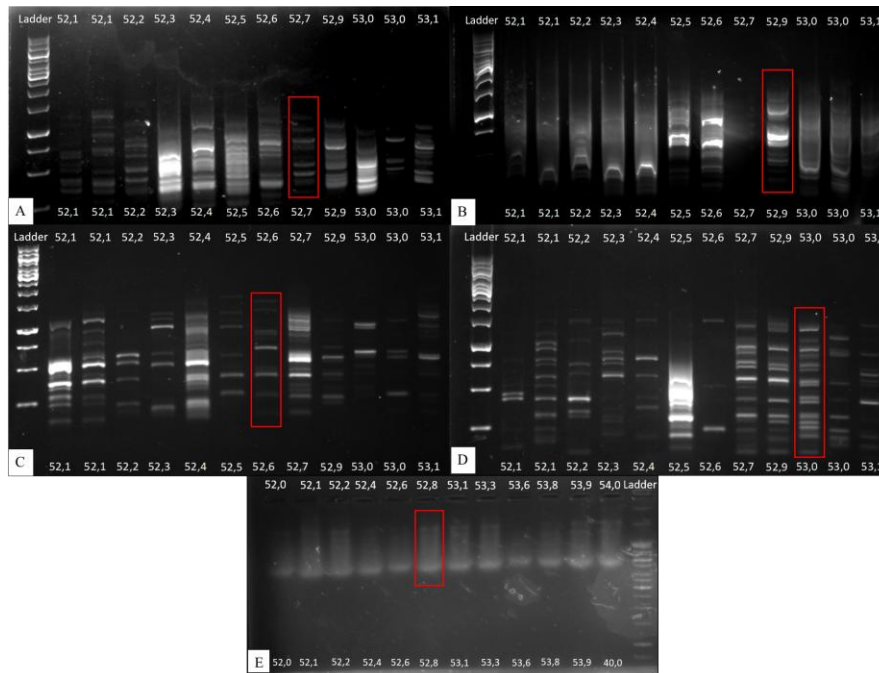
Selain perbedaan lingkungan, variasi genetik juga dapat menjadi penyebab munculnya variasi morfologi pada *S. zeylanicum*. Variasi genetik merupakan produk dari rekombinasi genetik, yang mana hal ini dapat menghasilkan adanya variasi fenotipe pada makhluk hidup, termasuk karakter morfologinya (Salgotra & Chauhan, 2023). Patten & Boyer (2022), melaporkan bahwa *Stuckenia pectinata* dengan morfotipe yang berbeda tidak menjadi konvergen apabila tumbuh dalam kondisi lingkungan yang sama. Hal ini mengindikasikan bahwa tidak hanya lingkungan yang menjadi penyebab munculnya variasi morfologi, melainkan juga terdapat kontribusi dari perbedaan genetik. Nikmah *et al.* (2021), melaporkan 53 aksesi *Desmos chinensis* di pulau Jawa menunjukkan adanya variasi morfologi dan variasi genetik yang ditandai dengan adanya pita polimorfik sebanyak 85,1% pada hasil amplifikasi dengan 11 primer ISSR. Namun, perlu penelitian lebih lanjut untuk mengetahui bagaimana keragaman genetik *S. zeylanicum* koleksi Kebun Raya Bogor, salah satunya dapat menggunakan marka ISSR. Sebagai langkah awal, optimasi primer perlu dilakukan untuk menentukan suhu *annealing* optimal masing-masing primer.

### Optimasi Primer

Optimasi 12 primer ISSR dilakukan dengan menggunakan suhu *annealing* yang bervariasi. Rentang suhu yang digunakan pertama kali adalah 52 – 54 °C. Berdasarkan hasil optimasi didapatkan hanya primer ISSR2, ISSR5, ISSR6, ISSR9, dan ISSR10 yang memunculkan pita DNA pada kondisi tersebut. Primer ISSR2 memperlihatkan pita terbaik pada suhu 52,8 °C (Gambar 2). Sementara itu, primer ISSR5, ISSR6, ISSR9, dan ISSR10 mengindikasikan yang baik pada rentang suhu 52,1 – 53,1 °C, sehingga optimasi dilanjutkan dengan rentang suhu tersebut untuk mendapatkan suhu *annealing* yang lebih optimal. Hasilnya, suhu paling optimal untuk primer ISSR5, ISSR6, ISSR9, dan ISSR10 masing-masing adalah 52,7 °C, 52,9 °C, 52,6 °C dan 53,0 °C (Gambar 2).

Pita hasil optimasi primer yang tidak muncul pada kisaran 52 – 54 °C dilakukan optimasi kembali dengan rentang suhu yang berbeda. Caranya adalah dengan menaikkan atau menurunkan suhu *annealing* dari suhu yang telah digunakan. Rentang suhu yang digunakan adalah 45 – 50 °C dan 55 – 58 °C. Primer7, ISSR8, ISSR11, dan ISSR12 dioptimasi dengan menurunkan suhu *annealing* dari suhu optimasi sebelumnya, yaitu pada rentang suhu 45 – 50 °C. Sementara itu, primer ISSR1, ISSR3, dan ISSR4 dioptimasi dengan menaikkan suhu *annealing* dari suhu optimasi sebelumnya, yaitu pada rentang suhu 55 – 58 °C.

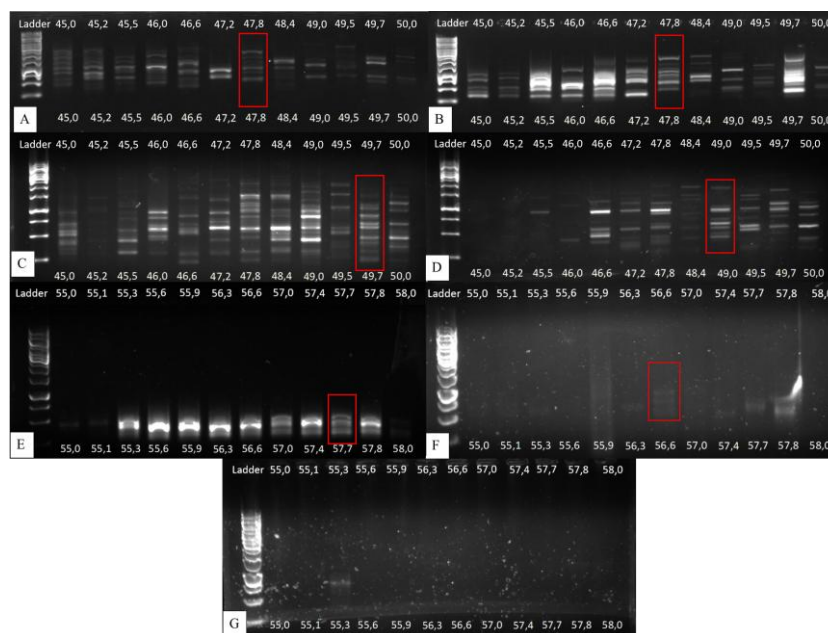
Hasil optimasi primer ISSR7, ISSR8, ISSR11, dan ISSR12 pada rentang suhu 45 – 50 °C menunjukkan adanya pita DNA setelah divisualisasi. Suhu yang paling optimal untuk primer ISSR7, ISSR8, ISSR11, dan ISSR12 masing-masing adalah 47,8 °C, 47,8 °C, 49,7 °C, dan 49,0 °C (Gambar 3). Sementara itu, hasil optimasi untuk primer ISSR1, ISSR3, dan ISSR4 pada suhu 55 – 58 °C menunjukkan hanya primer ISSR1 dan ISSR3 yang memunculkan pita DNA. Masing-masing suhu yang paling optimal untuk kedua primer tersebut adalah suhu 57,7 °C dan 56,6 °C (Gambar 3).



**Gambar 2.** Hasil Optimasi Primer ISSR pada Suhu 52 – 54 °C dan 52,1 – 53,1 °C; A) ISSR5, B) ISSR6, C) ISSR9, D) ISSR10, E) ISSR2.

Pemilihan suhu paling optimal tersebut didasarkan pada hasil visualisasi pita DNA. Pita DNA yang baik adalah pita yang tegas, tebal, tidak *smear*, dan dapat di-*scoring* (Pharmawati *et al.*, 2021; Kusuma, 2022). Menurut Silalahi *et al.* (2021), pita DNA yang muncul dari hasil optimasi menunjukkan bahwa suhu tersebut tepat dan optimal untuk *annealing* primer. Oleh karena itu, DNA dapat teramplifikasi dengan optimal dan menghasilkan produk dengan spesifitas yang tinggi.

Ketiadaan pita DNA pada primer ISSR4 menunjukkan bahwa suhu optimasi yang telah dilakukan bukan merupakan suhu yang optimal bagi primer tersebut untuk *annealing*. Menurut Silalahi *et al.* (2021), suhu *annealing* yang tidak tepat dapat menyebabkan primer tidak dapat menempel pada *DNA template*. Oleh karena itu, DNA tidak dapat teramplifikasi dan tidak muncul ketika divisualisasi.



**Gambar 3.** Hasil Optimasi Primer ISSR pada Suhu 45 – 50 °C dan 55 – 58 °C; A) ISSR7, B) ISSR8, C) ISSR11, D) ISSR12, E) ISSR1, F) ISSR3, G) ISSR4.

## KESIMPULAN

*Syzygium zeylanicum* memiliki daun bertipe tunggal, bangun daun lanset (*lanceolate*), ujung daun *caudate*, pangkal daun *aequilateral*, tepi daun rata (*entire*), venasi *brochidodromous*, tata letak daun berlawanan (*opposite*), perlekatan *petiole*, permukaan abaksial *glabrous*, dan permukaan adaxial *lustrous*. Ukuran daun dan ranting masing-masing vak bervariasi. Panjang daun berkisar antara 6 – 8,7 cm, lebar daun berkisar antara 2,37 – 3,03 cm, dan diameter ranting berkisar antara 1,45 – 1,96 mm.

Sebanyak 11 dari 12 primer ISSR berhasil didapatkan suhu optimal untuk *annealing* primer. Suhu paling optimal untuk primer ISSR1, ISSR2, ISSR3, ISSR5, ISSR6, ISSR7, ISSR8, ISSR9, ISSR10, ISSR11, dan ISSR12 masing-masing adalah 57,7 °C, 52,8 °C, 56,6 °C, 52,7 °C, 52,9 °C, 47,8 °C, 47,8 °C, 52,6 °C, 53,0 °C, 49,7 °C, dan 49,0 °C. Sementara itu, rentang suhu 52 – 54 °C dan 55 – 58 °C bukan merupakan suhu *annealing* optimal untuk primer ISSR4.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Pusat Riset Botani Terapan, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) atas izinnnya untuk melaksanakan penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agisimanto, D., Martasari, C. & Supriyanto, A. (2007). Perbedaan primer RAPD dan ISSR dalam identifikasi hubungan kekerabatan genetik jeruk siam (*Citrus suhuniensis* L. Tan) Indonesia. *Jurnal Hortikultura*, 17(2), 101–110.
- Alcantara-Ayala, O., Oyama, K., Rios-Munoz, C. A., Rivas, G., Ramirez-Barahona, S., & Luna-Vega, I. (2020). Morphological variation of leaf traits in the *Ternstroemia lineata* species complex (Ericales: Pentaphragaceae) in response to geographic and climatic variation. *PeerJ*, 1–26.
- Basar, K., Pathak, D., & Pati, M. (2025), Morphological variation in plants growing in polluted and non-polluted environment. *International Journal of Ecology and Environmental Sciences*, 51, 275–280.
- Beentje, H. (2010). *The kew plant glossary: An illustrated dictionary of plant terms*. Royal Botanic Garden.
- Bisoyi, M. K., Acharya, L., Mukherjee, A. K., & Panda, P. C. (2010). Study of inter-specific relationship in six species of *Sesbania* Scop. (Leguminosae) through RAPD and ISSR markers. *International Journal of Plant Physiology and Biochemistry*, 2(2), 11–17.
- Gaponenko, M. B., Blum, O. B., & Kashevarov, G. P. (2021). Genetic polymorphism and variability of the *Anacamptis morio* s.l. (Orchidaceae Juss.) population in ukraine. *Cytology and Genetics*, 55(4), 299–308.
- Harris, J. G., & Harris, M. W. (2001). *Plant identification terminology: An illustrated glossary. Second Edition*. Spring Lake Publishing.
- Hartanti, F., Miftahudin., & Hartati, N. S. (2019). Keragaman morfologi dan molekuler ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz) hasil perbanyakan in vitro. *Jurnal Bioteknologi dan Biosains Indonesia*, 6(2), 288–300.
- Khajudparn, P., Prajongjai, T. Poolsawat, O. & Tantasawat, P. A. (2012). Application of ISSR markers for verification of F1 hybrids in mungbean (*Vigna radiata*). *Genetics and Molecular Research*, 11(3), 3329–3338.
- Khan, S., Agarwal, S., Singh, K. Chaturgoon, A., & Pareek, A. (2023). Molecular fingerprinting and phytochemical investigation of *Syzygium cumini* L. from different agro-ecological zones of India. *Plants*, 12(4), 931.
- Kustanto, H. (2023). The phenotypic and genetic diversity test of several inbred lines on the 7th generation of melon (*Cucumis melo*). *Biodiversitas*, 24(5), 2623–2629.
- Kusuma, A. B. (2022). Optimalisasi ekstraksi DNA dan PCR untuk identifikasi molekuler pada 4 jenis karang lunak berbeda. *Jurnal Enggano*, 7(2), 175–182.

- Lima, D. F., Mauad, A. V. S., Silva-Pereira, V., Smidt, E. C., & Goldenberg, R. (2015). Species boundaries inferred from ISSR markers in the *Myrcia laruotteana* complex (Myrtaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 301, 353–363.
- Martiansyah, I. (2020). Re-Inventarisasi dan pemutakhiran data suku Myrtaceae yang berpotensi buah koleksi Kebun Raya Bogor (pp. 11–15). *Prosiding Biologi Achieving the Sustainable Development Goals with Biodiversity in Confronting Climate Change*.
- Martiansyah, I. (2021). Mini review: Pendekatan molekuler DNA barcoding: Studi kasus identifikasi dan analisis filogenetik *Syzygium* (Myrtaceae) (pp. 187–195). *Prosiding Biologi Achieving the Sustainable Development Goals with Biodiversity in Confronting Climate Change*.
- Mayasani, N., Hikmahtunnazila, Lestari, W. & Roanisca, O. (2019). Kajian fitokimia daun *Syzygium zeylanicum* menggunakan metode microwave assisted extraction (MAE) (pp. 1–4). *Prosiding Seminar Nasional Penelitian dan Pengabdian pada Masyarakat*.
- Nikmah, I. A., Rugayah, R., & Chikmawati, T. (2021). Morphological and genetic variation in populations of *Desmos chinensis* Lour. (Annonaceae). *Biodiversitas*, 22(2), 811–822.
- Nilkanta, H., Amom, T., Tikendra, L., Rahman, H., & Nongdam, P. (2017). ISSR marker based population genetic study of *Melocanna baccifera* (Roxb.) Kurz: A commercially important bamboo of Manipur, North-East India. *Scientifica*, 1–9.
- Pacheco-Hernández, Y., Villa-Ruano, N., Lozoya-Gloria, E., Barrales-Cortés, C. A., Jiménez-Montejo, F. E., & Cruz-López, M. C. (2021). Influence of environmental factors on the genetic and chemical diversity of *Brickellia veronicifolia* populations growing in fragmented shrublands from Mexico. *Plants*, 10(2), 325.
- Patten, M. V., & Boyer, K. E. (2022). Investigating causes and implications of morphological variation in a native pondweed (*Stuckenia pectinata*) of San Francisco Estuary. *Aquatic Botany*, 185, 103608.
- Perera, S. A. M. U., & Dissanayake, P. K. (2023). Morphological features and landscaping suitability of *Syzygium zeylanicum* (L.) DC. var. *lineare* trees from the Belihuloya Region of Sri Lanka. *The Journal of Agricultural Sciences*, 18(2), 289–306.
- Perez-Nicolas, M., Colinas-Leon, T., Alia-Tejacal, I., Pena-Ortega, G., Gonzales-Andreas, F., & Beltran-Rodriguez, L. (2021). Morphological variation in scarlet plume (*Euphorbia fulgens* Karw ex Klotzsch, Euphorbiaceae), an underutilized ornamental resource of Mexico with global importance. *Plants*, 10, 1–14.
- Pharmawati, M., Wrasati, L. P., & Yowani, S. C. (2021). ISSR and RAPD primers selection for assessing genetic diversity of *Enhalusacoroides* (L.f.) Royle. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*, 709, 012054.
- Reddy, M. P., Sarla, N., & Siddiq, E. A. (2002). Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. *Euphytica*, 128, 9–17.
- Rychlik, W., Spencer, W. J., & Rhoads, R. E. (1990). Optimization of the annealing temperature for DNA amplification in vitro. *Nucleic Acids Research*, 18(21), 6409–6412.
- Salgotra, R. K., & B. S. Chauhan. (2023). Genetic diversity, conservation, and utilization of plant genetic resources. *Genes*, 14, 174.
- Salsabila, A. J., Subiastuti, A. S., & Daryono, B. S. (2021). Identification of ISSR-based molecular markers associated with ploidy level of orange watermelon (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum & Nakai). *Journal of Tropical Biodiversity and Biotechnology*, 6(3), 1–8.
- Sari, V., Miftahudin, & Sobir. (2017). Keragaman genetik bawang merah (*Allium cepa* L.) berdasarkan marka morfologi dan ISSR. *Jurnal Agronomi Indonesia*, 45(2), 175–181.
- Sharanya, K. P., Kumar, K. G. A., & Nair, P. S. (2023). Recalcitrant behaviour of the seeds of endangered *Syzygium zeylanicum* (L.) DC. *Journal of Plant Growth Regulation*, 42, 2626–2636.



- Shilpa, K. J., & Krishnakumar, G. (2015). Nutritional, fermentation and pharmacological studies of *Syzygium caryophyllatum* (L.) Alston and *Syzygium zeylanicum* (L.) DC Fruits. *Cogent Food & Agriculture*, 1, 1018694.
- Silalahi, D., Wirawan, I. G. P., & Sasadara, M. M. V. (2021). Optimization of annealing temperature for amplification of Ehosc01a locus in pranajiwa (*Euchresta horsfieldii*) plant collected from mountains, urban and coastal areas in Bali. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*, 913, 012059.
- Sintia, D., Syarifah, & Sunarti, R. N. (2023). Skrining fitokimia jamur endofit pada buah jambu nasi-nasi (*Syzygium zeylanicum*) (pp. 531–539). Prosiding Seminar Nasional Biologi UIN Raden Fatah Palembang.
- Yogurtcu A., & Aygun, A. (2021). Characterization of tea (*Camellia sinensis* L.) genotypes grown in turkey by ISSR markers. *Applied Ecology and Environmental Research*, 19(5), 4103–4114.