

Keragaman Genetik Tanaman Aren (*Arenga pinnata* Merr) di Tapanuli Selatan dengan Menggunakan Marka RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*)

*Analysis of Genetic Diversity of Sugar Palm (*Arenga pinnata* Merr) in Tapanuli Selatan Investigated Using Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)*

Mahyuni Khairiyah Harahap¹

¹Dosen Fakultas Pertanian Universitas Graha Nusantara kampus I Tor Simarsayang Padangsidimpuan
Email: Khairiyah.harahap@yahoo.co.id

Abstrak

Tanaman aren (*Arenga pinnata* Merr) adalah tanaman kehutanan dan termasuk hasil hutan non kayu yang sangat potensial untuk mengatasi kekurangan pangan. Sebagai tanaman yang potensial, maka sangat diperlukan informasi lengkap tentang tanaman tersebut, termasuk analisis DNA. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keragaman genetik tanaman aren populasi alam di daerah Tapanuli Selatan berdasarkan marka Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD). Sebanyak 24 aksesori aren di daerah Tapanuli Selatan, meliputi Angkola Barat, Angkola Selatan, Batangtoru dan Sipirok dianalisis keragamannya dengan menggunakan marka RAPD. Perhitungan koefisien keragaman genetik dan pembentukan dendrogram dilakukan dengan bantuan program DARwin5.05. Rata – rata % polimorfik sebesar 31.57 % sedangkan untuk Polymorphic Information Content (PIC) yaitu 85 %. Hasil dendrogram menunjukkan bahwa 24 aksesori aren terbagi dalam 5 kelompok. Aksesori asal Angkola Barat menyebar pada kelompok 2-4. Aksesori asal Sipirok menyebar pada kelompok 2-5. Aksesori asal Angkola Selatan menyebar pada kelompok 1, 3 dan 5. Aksesori asal Batangtoru menyebar pada kelompok 2, 3 dan 5. Hal ini menunjukkan bahwa keempat lokasi yang diteliti memiliki keragaman genetik tinggi. Untuk aksesori 11 dari Angkola Selatan diduga memiliki materi spesifik karena mengelompok hanya sendiri saja.

Kata Kunci : *Arenga pinnata* Merr, Keragaman Genetik, *Random Amplified Polymorphic DNA*

Abstract

*Palm Sugar (*Arenga pinnata* Merr) was a plant including forestry and non-timber forest products with huge potential to overcome food shortages. As the crop potential, it is necessary information about the plant, including DNA analysis. This study aims to determine the genetic diversity of natural populations of sugar palm trees in South Tapanuli by Random Amplified Polymorphic DNA markers (RAPD). A total of 24 accessions palm sugar the populations originated from various regions in Tapanuli Selatan, consists of Angkola Barat, Angkola Selatan, Batangtoru and Sipirok. In this experiment the analysis diversity among palm sugar were investigated using RAPD marker. Results of the investigations indicated the means polymorphic 31.57 % was while mean of Polymorphic Information Content (PIC) of the RAPD marker analyzed was 85 %. Results of genetic dissimilarity coefficient calculation and dendrogram construction using DARwin 5.05 indicated that 24 accessions palm sugar populations was clustered into five groups. Part of Angkola Barat origin accessions spreaded into group II-IV; that of Sipirok accessions origin spreaded into group II-V; Angkola Selatan accessions origin spreaded into group I, III and V; and Batangtoru accessions origin spreaded into Group II,III and V. This shows that the four sites studied had a high genetic diversity. The accessions 11 of Angkola Selatan allegedly have specific material alone because cluster only.*

Keywords: *Arenga pinnata* Merr, Genetic Diversity, *Random Amplified Polymorphic DNA*

Pendahuluan

Pengelolaan hasil hutan non kayu mempunyai peranan yang cukup besar dalam perekonomian bangsa yaitu 30 juta penduduk Indonesia “secara langsung mengandalkan hidupnya pada sektor kehutanan yaitu mengambil dan mengelola hasil hutan non kayu” sebagai mata pencaharian dan wadah penyerap tenaga kerja. Pengusahaan tanaman aren sebagian besar diusahakan oleh petani dan belum diusahakan dalam skala besar, karena pengelolaan tanaman belum menerapkan teknik budidaya yang baik dan menyebabkan produktivitasnya rendah (Baharuddin dkk., 2007).

Peluang mengembangkan tanaman aren didukung oleh ketersediaan teknologi yang ada, selain itu tanaman aren mudah beradaptasi pada berbagai tipe tanah di seluruh Indonesia termasuk lahan kritis, alang-alang dan untuk program reboisasi dan konservasi hutan. Sedangkan tantangan yang perlu ditanggulangi untuk mengembangkan tanaman ini meliputi: input teknologi masih minim, perbaikan manajemen produksi, perbaikan pengolahan, pemasaran masih tradisional, diseminasi masih terbatas pada sebagian kecil petani, dan kesulitan bibit unggul.

Untuk menentukan keragaman genetik tanaman dapat didasarkan pada sifat agronomi, morfologi, biokimia dan marka molekuler. Namun penanda molekuler dapat menunjukkan perbedaan genetik pada tingkat yang lebih rinci dan tanpa gangguan faktor lingkungan serta melibatkan teknik yang memberikan hasil keragaman genetik yang cepat. Berbagai jenis penanda molekuler berbeda potensinya dalam mendeteksi perbedaan antara individu, biayanya, fasilitas yang dibutuhkan, konsistensi dan replikasi hasil (Mohammadi dan Prasanna, 2003; Sudré dkk., 2007).

Keragaman genetik memainkan peran yang sangat penting dalam adaptabilitas suatu spesies karena ketika lingkungan suatu spesies berubah, variasi gen yang kecil diperlukan agar spesies dapat bertahan hidup dan beradaptasi. Spesies yang memiliki derajat keragaman genetik yang tinggi pada populasinya akan memiliki lebih banyak variasi alel yang dapat diseleksi (Elfred dan Stansfield, 2007).

Teknik biologi molekuler telah memberikan peluang untuk mengembangkan dan mengidentifikasi peta genetik dari suatu kultivar tanaman. Pendekatan genetika molekuler dengan menggunakan penanda DNA telah berhasil membentuk penanda molekuler yang mampu dalam mendeteksi gen dan sifat-sifat tertentu, evaluasi keragaman dan evolusi pada tingkat genetik. Beberapa teknik penanda DNA tersebut adalah *Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)*, *Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP)* dan *Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)*.

Tenda, dkk (2010) telah meneliti keragaman genetik aren pada bulan Desember 2009 yaitu eksplorasi di desa Kandolo kecamatan Teluk Pandan dan desa Peridan kecamatan Sangkuliran, Kabupaten Kutai Timur, Propinsi Kalimantan Timur. Hasil eksplorasi diperoleh dua tipe aren yaitu aren genjah yang terdapat di desa Kandolo kecamatan Teluk Pandan dan aren Dalam yang terdapat di desa Paridan kecamatan Sangkuliran. Tipe aren genjah memiliki keragaman tinggi pada sifat tinggi batang, jumlah daun, panjang tangkai mayang jantan, panjang rangkaian mayang jantan, jumlah mayang jantan, jumlah mayang betina dan lama berproduksi per mayang. Sedangkan tipe aren Dalam memiliki keragaman tinggi pada sifat tinggi batang, panjang tangkai mayang jantan, jumlah mayang jantan, panjang tangkai mayang betina, jumlah mayang betina, produksi nira, dan lama berproduksi permayang.

Beberapa penelitian mengenai keragaman genetik yang dilakukan dengan marka RAPD antara lain: belimbing (Yulita, 2011), jagung, (Leah dkk., 2010), jarak pagar (Yunus, 2007 dan Suryatini, 2011), kelapa sawit (Hayati dkk., 2004 dan Zulhermana, 2009), buah kiwi (Palombi dan Damiano, 2001).

Salah satu marka molekuler yang tekniknya sederhana dan mudah serta berbiaya murah untuk analisis sidik jari DNA tanaman aren didasarkan pada jumlah, frekuensi dan distribusi alel-alel DNA berdasarkan penanda RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*). Sejauh ini sedikit studi difokuskan pada keragaman genetik tanaman aren, oleh karena itu diperlukan adanya upaya analisis molekuler pada tanaman aren dengan menggunakan penanda RAPD. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keragaman genetik tanaman aren populasi alam di daerah Tapanuli Selatan berdasarkan marka Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD).

Metodologi Penelitian

Bahan Tanaman

Daun aren yang digunakan adalah daun dari populasi alam di daerah Tapanuli Selatan yaitu Angkola Selatan (0-400 mdpl), Angkola Barat (400-800 mdpl), Sipirok (800-1200 mdpl) dan Batangtoru (300-800) Provinsi Sumatera Utara (masing – masing lokasi diambil 10 akses). Daun dipilih yang masih muda/lembut berwarna kuning keputihan.

Ekstraksi DNA Genomik

Isolasi DNA genom dilakukan dengan menggerus 0.3 g daun sampel tanaman aren yang masih muda berwarna kuning dalam buffer ekstraksi CTAB dan ditambah antioksidan PVPP. Prosedur isolasi DNA genomik diadaptasi dari metode CTAB oleh Orozco-Castilo *et al.* Pada tahap akhir isolasi, DNA genom disuspensikan dengan larutan TE sedemikian sehingga dapat disimpan lama pada refrigerator -20°C . Kemudian diuji kualitas DNA dengan menggunakan elektroforesis gel agarose dan kuantitas DNA genomik diukur dengan UV-Spektrofotometer. Analisis RAPD dilakukan pada Laboratorium Terpadu, Fakultas Kedokteran, Universitas Sumatera Utara, Medan, Indonesia.

Amplifikasi/ genotyping

Amplifikasi mengikuti prosedur baku analisis RAPD, sesuai prosedur William dkk., (1990). Amplifikasi dilakukan dengan menggunakan 10 primer polimorfik dari Sigma-Aldrich yang telah terbukti menunjukkan polimorfisme pada kelapa sawit di Indonesia (Retno dkk, 2001) dengan pertimbangan aren dan kelapa sawit satu famili yaitu palmae (palem-paleman).

Sebelum running PCR dilakukan pengenceran DNA dengan mengambil 5 μl stok DNA dan ditambah 45 μl ddH₂O sehingga diperoleh 50 μl aliquat DNA. Kemudian dilakukan pengenceran primer yaitu tube primer disentrifius 5 menit setelah itu ditambahkan ddH₂O sesuai ukuran molar. Dibuat aliquot primer yaitu dengan mengambil 10-15 μl stok primer.

Persiapan awal PCR adalah mencairkan komponen untuk running PCR yaitu paket PCR produksi Promega dalam kotak berisi pecahan es. Untuk mempermudah pembuatan larutan Master dimisalkan 5 sampel yang akan digunakan maka larutan master terdiri atas : dd H₂O 9.5 μl x 5 = 47.5 μl , Go Tag 12,5 μl x 5 = 62.5 μl , aliquot primer 1 μl x 5 = 5 μl . Dari tube diambil 23 μl ke tube yang lain sehingga diperoleh 20 tube untuk PCR dan ditambahkan masing masing DNA sebanyak 2 μl . Kemudian tabung dispin manual. Tabung berisi stok DNA dan campuran master dimasukkan dalam blok sampel di mesin PCR. Program amplifikasi (telah dikembangkan untuk kelapa sawit oleh Setiyo, 2001) terdiri dari siklus denaturasi awal 4 menit pada 94°C , diikuti 45 siklus pada tahapan denaturasi 94°C selama 1 menit, tahapan penempelan 36°C selama 1 menit 45 siklus, perpanjangan 72°C selama 2 menit 45 siklus, dan elongasi akhir pada 72°C selama 10 menit. Setelah reaksi PCR selesai DNA hasil amplifikasi dianalisis dengan elektroforesis gel 1.4%.

Analisis Data

Penentuan Skoring Marka RAPD

Untuk menentukan keragaman genetik, produk PCR – RAPD diskoring berdasarkan muncul tidaknya pita DNA. Pita yang muncul pada gel diasumsikan sebagai alel RAPD. Keragaman alel RAPD ditentukan dari perbedaan migrasi alel pada gel dari masing-masing individu sampel. Berdasarkan ada atau tidaknya pita, profil pita diterjemahkan kedalam data biner. Pita yang muncul diberi kode 1 (ada) dan 0 (tidak ada) (Ferreira dan Grattapaglia, 1994).

Penentuan Ukuran Pasangan Basa

Ukuran fragmen basa (pasangan basa = bp) produk PCR ditentukan dengan log jarak menggunakan program regresi linier. Fragmen DNA standar (100 bp DNA ladder) digunakan sebagai absis (x) dan log jarak migrasi sebagai ordinat (y). Dari persamaan ini ditentukan ukuran pasangan basa dari fragmen produk PCR berdasarkan log jarak dari fragmen tersebut.

Matriks ketidaksamaan (*dissimilarity*) tiap kombinasi pasangan dihitung berdasarkan *Dissimilarity Index Simple Matching* pada bootstraps 1000, sesuai rumus :

$$d_{ij} = 1 - \frac{1}{L} \sum_{l=1}^L \frac{m_l}{\pi}$$

dengan d_{ij} ketidaksamaan antara i dan j, L jumlah lokus, π merupakan tingkat ploidi dan m_l merupakan jumlah alel yang umum diantara i dan j untuk lokus l. Matriks jarak atau ketidaksamaan genetik untuk semua kombinasi pasangan individu dapat dilakukan dengan dua tipe analisis deskriptif dari keragaman : (1) *Principal Coordinates Analysis* (PCoA), suatu jenis analisis faktorial pada tabel ketidaksamaan untuk mendapatkan group origin utama dan (ii) *Neighbour-Joining Tree* (NJtree) berdasarkan Saitou dan Nei (1978) untuk memperoleh gambaran dari kekerabatan diantara individu-individu. Perhitungan dan analisis deskriptif ini menggunakan software DARwin 5.05 (Perrier dan Jacquemoud-Collet 2009). Nilai polimorfisme informasi konten (PIC) menurut Botstein dkk. (1980).

Hasil dan Pembahasan

Dari semua sampel yang telah diuji dengan gel agarose diperoleh 24 aksesi DNA aren yang diuji dengan running PCR dengan menggunakan 10 primer. Jumlah pita setiap primer bervariasi. Diantara 24 aksesi aren, primer OPN-03 memberikan nilai tertinggi persentasi primer yang polimorfik. Penelitian ini mengindikasikan bahwa 24 aksesi aren di daerah Tapanuli Selatan masih memiliki sumber gen yang melimpah yang dapat dimanfaatkan untuk perbaikan perkembangan aren.

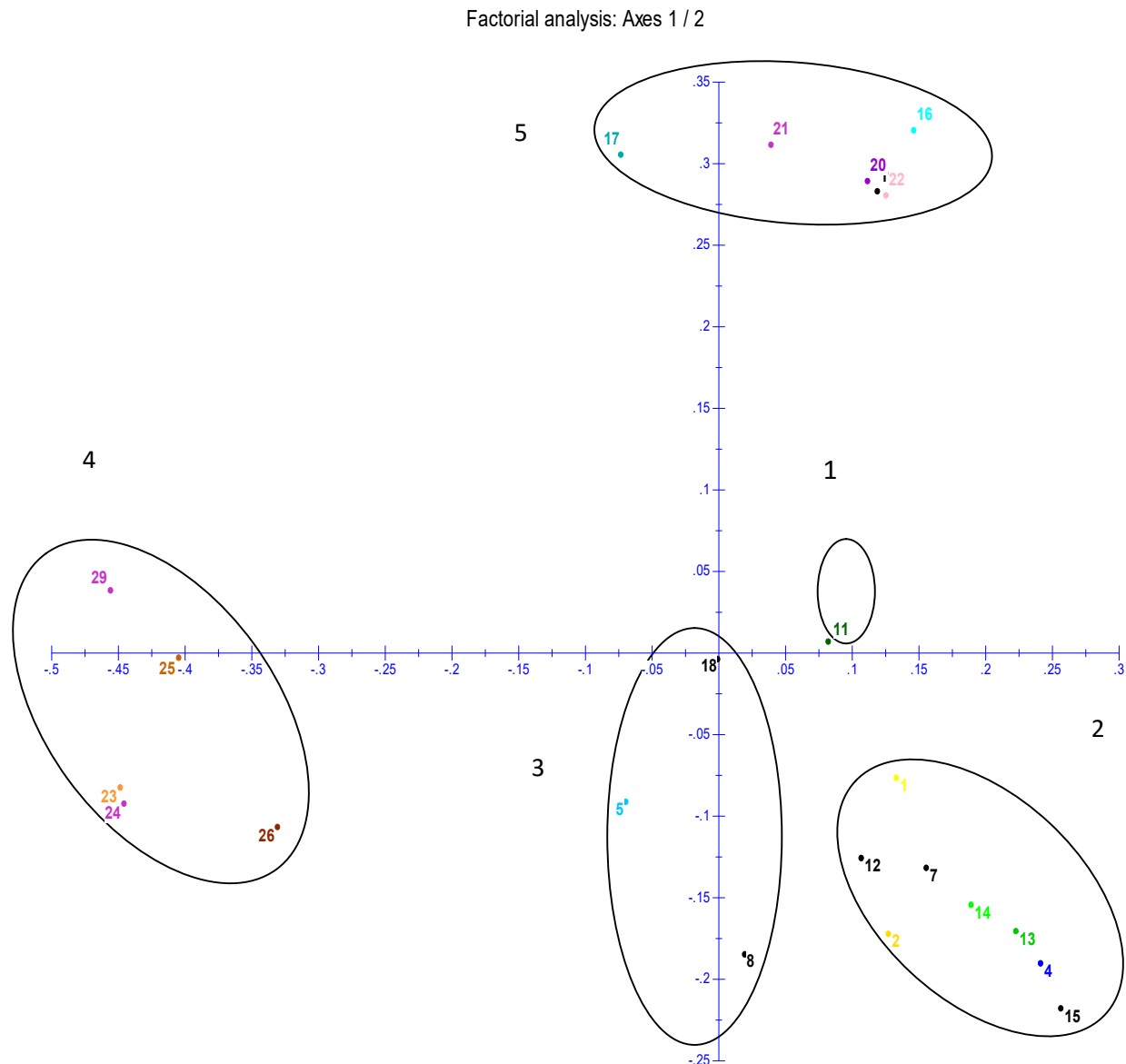
Pita yang muncul memiliki ukuran basa dan intensitas pita yang bervariasi. Perbedaan intensitas pita DNA dipengaruhi oleh sebaran situs penempelan primer pada genom, kemurnian dan konsentrasi genom dalam reaksi. Banyaknya pita yang dihasilkan oleh setiap primer tergantung pada sebaran situs yang homolog pada genom (Williams dkk, 1990). Fragmen yang tidak muncul disebabkan tidak terjadinya amplifikasi, terjadi karena mungkin primer yang digunakan tidak sesuai dengan DNA cetakan. Beberapa bukti percobaan menunjukkan bahwa perbedaan satu pasang basa saja sudah cukup menyebabkan ketidaksesuaian cetakan primer yang kemudian mencegah amplifikasi (William dkk., 1990).

Tabel 1. Polymorphic Information Content (PIC) pada 10 Primer RAPD

NO	Jenis Primer RAPD	Sequens Primer (5' – 3')	Tm Primer (°C)	Range pita DNA (bp)	% Polimorfik	PIC
1	OPC-07	GTCCCGACGA	27	1789-198	30.31	0.82
2	OPC-12	TGTCATCCCC	25	1628-198	27.39	0.80
3	OPD-03	GTCGCCGTCA	27	1789-179	27.27	0.88
4	OPD-12	GGGGTGACGA	27	1500-296	28.82	0.77
5	OPD-16	AGGGCGTAAG	25	2817-134	28.53	0.85
6	OPD-20	ACCCGGTCAC	27	1717-312	35.81	0.88
7	OPH-06	ACGCATCGCA	25	1838-276	38.89	0.90
8	OPH-09	TGTAGCTGGG	25	2439-89	30.73	0.84
9	OPI-20	AAAGTGCGGG	25	1627-283	26.14	0.88
10	OPN-03	GGTACTCCCC	27	2250-141	42.13	0.90
Total				3157		
Rataan				31.57	0.85	

Dari Tabel 1 dapat dilihat bahwa pita DNA dengan ukuran pasangan basa tertinggi yaitu 2817 bp pada primer OPD-16 dan terendah sebesar 89 bp pada primer OPH-09. Nilai informasi polimorfisme konten (PIC) umumnya tinggi pada 24 aksesori aren dengan rata-rata 0.85, menunjukkan bahwa aksesori aren yang dipilih masih ditandai dengan tingkat keragaman genetik tinggi. Keberadaan (persentasi amplifikasi) setiap primer berada pada selang 26.14 % sampai 42.13 % diantara 24 aksesori aren yang dianalisis dengan rata-rata 31.57 %.

Nilai PIC pada 10 primer yang digunakan antara 0.77-0.90. Nilai rata-rata PIC pada 24 aksesori aren sebesar 0.85. Nilai ini cukup tinggi yang menunjukkan sifat diskriminatif pada primer tersebut karena lebih dari 0.5. DeWoody dkk. (1995) menyatakan nilai PIC penanda lebih dari 0,5 menunjukkan sifat diskriminatif pada primer tersebut. Nilai PIC lebih dari 0,5 efisien dalam membedakan genotipe dan sangat berguna dalam mendeteksi tingkat polimorfisme pada lokus tertentu. Sehingga 10 primer RAPD yang digunakan sesuai untuk karakterisasi tanaman aren, yang ditunjukkan oleh nilai PIC dari 10 primer di atas 0.5.

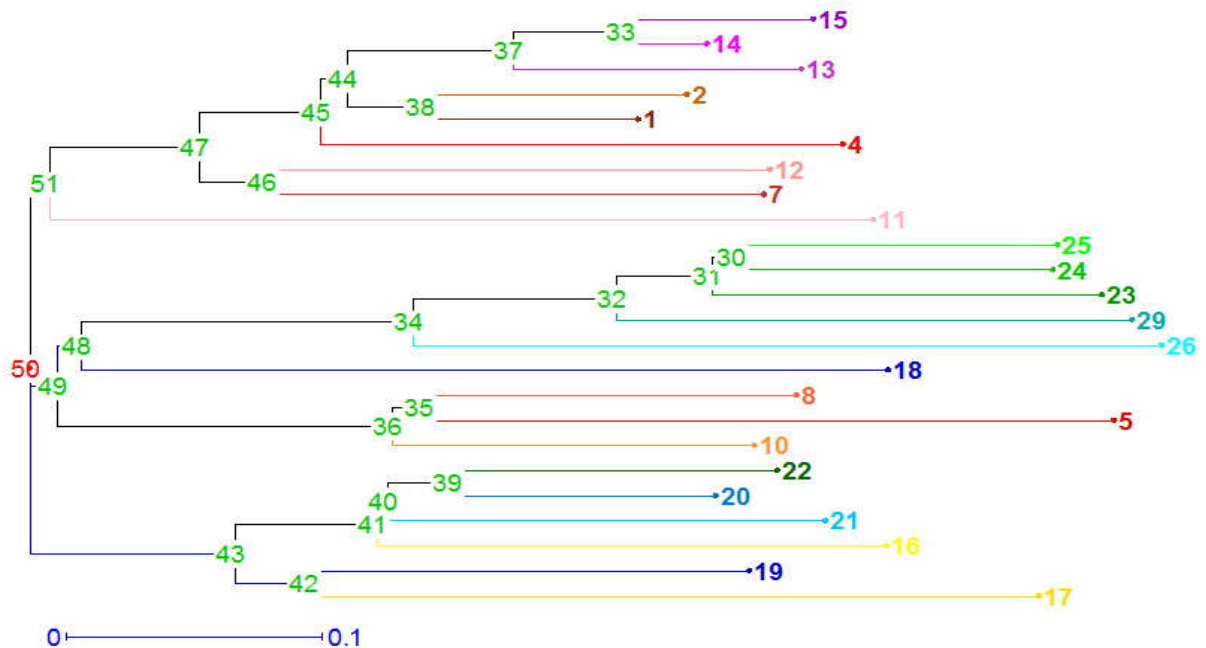


Gambar 1. Faktorial analisis (*Principal Coordinate Analysis*) aksis 1 (horizontal) dan aksis 2 (vertikal) dengan 10 marka RAPD

Gambar 1. menunjukkan perbedaan PCoA (faktorial analisis) diantara 5 kelompok tercermin dari perbedaan pada hasil aksis 1 dan 2 yang mampu menjelaskan total 41.74 % dari keseluruhan keragaman molekuler. Nilai ini menunjukkan bahwa hubungan genetik dari dua genotif aksesori aren memiliki kesamaan genetik sebesar 58.26 %.

Pada populasi alamiah tanaman, keragaman yang tinggi diharapkan berada pada pusat asal (*center of origin*) dan keragaman akan cenderung menurun berdasarkan semakin jauhnya jarak geografi dari pusat asal tanaman. Gambar 2 dan 3 menunjukkan profil pohon filogenetik berdasarkan analisis pengelompokan UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method with Arithmetic*) dengan metode *Matrix Dissimilarity Simple Matching* untuk 24 aksesori pada 10 marka RAPD. Hasil perhitungan untuk koefisien ketidaksamaan genetik menunjukkan bahwa 24 aksesori aren terbagi 5 kelompok. Aksesori 11 membentuk pengelompokan sendiri. Kelompok 1 (1 aksesori) berasal dari daerah Angkola Selatan. Kelompok 2 berasal dari daerah Angkola Barat (4 aksesori), Sipirok (2 aksesori) dan Batangtoru (2 aksesori). Kelompok 3 berasal dari

Sipirok (1 akses), Angkola Barat (1 akses), Angkola Selatan (1 akses) dan Batangtoru (1 akses). Kelompok 4 berasal dari daerah Sipirok (3 akses) dan Angkola barat (2 akses). Kelompok 5 berasal dari daerah Sipirok (2 akses), Batangtoru (1 akses) dan Angkola Selatan (3 akses). Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan asal akses dalam 1 kelompok. Perbedaan ini diperkirakan karena adanya campur tangan manusia dan keadaan geografi daerah akses yang memungkinkan biji terbawa oleh air dari satu daerah ke daerah yang lain.



Gambar 19. Histogram dari 24 Aksesori Aren di Daerah Tapanuli Selatan yang dianalisis berdasarkan *Matrix Dissimilarity Simple Matching*

Aksesori asal Angkola Barat menyebar pada kelompok 2-4 terdiri dari P3,P4,P7 dan P10 pada kelompok 2, P1 pada kelompok 3, P5 dan P8 pada kelompok 4. Aksesori asal Sipirok menyebar pada kelompok 2-5 terdiri dari S5 dan S1 pada kelompok 2, S7 pada kelompok 3, S4,S9,S10 pada kelompok 4 serta S3 dan S6 pada kelompok 5. Aksesori asal Angkola Selatan menyebar pada kelompok 1, 3 dan 5 terdiri dari N10 pada kelompok 1, N5 pada kelompok 3, serta N2, N3 dan N4 pada kelompok 5. Aksesori asal Batangtoru menyebar pada kelompok 2, 3 dan 5 terdiri dari B6 pada kelompok 2, B7 pada kelompok 3, B10 pada kelompok 5. Hal ini menunjukkan bahwa ke empat lokasi yang diteliti memiliki keragaman genetik tinggi.

Hasil yang diperoleh dari penelitian ini dapat memberikan informasi bagi program pemuliaan aren bahwa koleksi plasma nutfah yang memiliki level keragaman yang lebih tinggi dapat direkomendasikan dan diberikan prioritas guna pengembangan karakteristik aren dengan karakter-karakter tertentu dan juga kegunaan untuk eksploitasi plasma nutfah. Aksesori asal Sipirok memiliki proporsi keragaman yang paling tinggi dilihat dari penyebaran aksesinya (lebih banyak dari 3 daerah lainnya).

Salah satu kekhasan dari daerah Angkola Selatan adalah aksesori N10 membentuk kelompok tersendiri dari aksesori Angkola Selatan lainnya. Hal ini diduga disebabkan karena asal geografis N10 berbeda dari aksesori Angkola Selatan lainnya. N10 memiliki kondisi geografis berbukit sedangkan N5 berada pada daerah pinggiran sungai dan N2, N3, N4 berada pada daerah sedikit berbukit dan

ternaungi. Kekhasan ini menunjukkan perbedaan materi genetik N10 dengan aksesori Angkola Selatan lainnya.

Kesimpulan

Dari 10 primer polimorfik yang digunakan menunjukkan keragaman genetik tinggi berdasarkan nilai PIC yang tinggi pula sehingga 10 primer yang digunakan sesuai untuk karakterisasi tanaman aren. Untuk 24 aksesori aren pada populasi alami di daerah Tapanuli Selatan menunjukkan keragamannya genetik yang tinggi dilihat dari penyebaran aksesori aren tiap-tiap daerah yang digunakan sehingga sesuai untuk pengembangan tanaman aren. Aksesori asal Sipirok menunjukkan keragaman genetik yang paling tinggi dilihat dari penyebaran aksesornya. Sedangkan aksesori asal Angkola Barat, Angkola Selatan dan Batangtoru menunjukkan keragaman genetik yang tinggi. Untuk aksesori 11 dari Angkola Selatan diduga memiliki materi spesifik karena mengelompok hanya sendiri saja.

Saran

Disarankan melakukan penelitian lebih lanjut dengan primer oligonukleotida yang berbeda dan jumlah primer oligonukleotida yang lebih banyak.

Daftar Pustaka

- Baharuddin, Musrizal, M., dan Bandaso, H., 2007. Pemanfaatan Nira Aren (*Arenga pinnata* Merr) sebagai Bahan Pembuatan Gula Putih Kristal. *Jurnal Perennial*, 3(2) : 40-43.
- Botstein, O., Putih, R.L., Skolnick, M., Davis, R.V. (1980). Pembangunan peta hubungan genetik pada manusia menggunakan pembatasan polimorfisme fragmen panjang. *Amer. J. Hum. Genet.* 32: 314-331.
- DeWoody, J.A., Honeycutt, R.L., Skow, L.C. 1995. Microsatellite Markers in White-Tailed Deer. *J Hered* 86 : 317-319
- Elfrod, S. dan Stansfield, W., 2007. *Genetika*. Edisi Keempat. Penerjemah: Damaring, T. W. Penerbit Erlangga. Jakarta.
- Hayati dkk., 2004. Genetic diversity of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) germplasm collections from Africa: implications for improvement and conservation of genetic resources. School of Environmental and Natural Resources Sciences, Faculty of Science and Technology, Universiti Kebangsaan Malaysia, 43600 Bangi, Selangor, Malaysia.
- Leah, A.A., Mangolim, C.A., Amaral, A.T., Goncalves, L.S.A., A.S. Mott1, I.B.O. Eloi1, V. Cordovés12 and M.F.P. da Silva, 2010. Efficiency of RAPD versus SSR markers for determining genetic diversity among popcorn lines. *Genet. Mol. Res.* 9 (1): 9-18.
- Mohammadi, S.A. and Prasanna B.M., 2003. Analysis of genetic diversity in crop plants - salient statistical tools and considerations. *Crop Sci.* 43: 1235-1248.
- Perrier X, Jacquemoud-Colled JP, (2006). DARwin Software. <http://darwin.cirad.fr/darwin>

- Palombi, M.A., dan C. Damiano, 2002. Comparison Between RAPD and SSR Molecular Markers in Detecting Genetic Variation in Kiwi Fruit (*Actinidia deliciosa* A. Chev). *Plant Cell Rep.* 20:1061–1066.
- Sudré C.P., Leonardecz E., Rodrigues R., Amaral Júnior A.T. dkk., 2007. Genetic resources of vegetable crops: a survey in the Brazilian germplasm collections pictured through papers published in the journals of the Brazilian Society for Horticultural Science. *Hortic. Bras.* 25: 496-503.
- Tenda, E.T., I. Maskroma dan B. Heliyanto, 2010. Eksplorasi Plasma Nutfah Aren (*Arenga pinnata* Merr) di Kutai Timur, Provinsi Kalimantan Timur. Balai Penelitian Tanaman Kelapa dan Palma Lain, Manado. *Buletin Palma* No. 38, Juni 2010.
- William, J.G.K., Kubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalsky, J.A., Tingey, S.V., 1990. DNA Polymorphism Amplified by Arbitrary Primers are Useful as Genetic Markers. *Nucleic Acids Res.* 18 : 6531-6536.
- Yulita, K.S., 2011. Variasi dan kekerabatan genetik pada dua jenis baru belimbing (*Averrhoa leucopetala* Rugayah et Sunarti *sp nov* dan *A. dolichorpa* Rugayah et Sunarti *sp nov.*, Oxalidaceae) berdasarkan profil Random Amplified Polymorphic DNA. Bidang Botani, Pusat Penelitian Biologi- LIPI, Bogor. *Jurnal Biologi Indonesia* 7(2): 321-330.
- Yunus, A., 2007. Identifikasi Keragaman Genetik Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) di Jawa Tengah Berdasarkan Penanda Isoenzim. *BIODIVERSITAS* 8 (3) : 249-252
- Zulhermana, 2009. Keragaman Genetik Intra dan Interpopulasi Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq) Pisifera Asal Nigeria Berdasarkan Analisis Marka *Simple Sequence Repeats* (SSR). Institut Pertanian Bogor, Bogor.