

KEKERABATAN PLASMA NUTFAH JAMBU METE BERDASARKAN MARKA *RANDOM AMPLIFIED POLYMORPHIC DNA*

Enny Randriani, Dewi Listyati dan Syafaruddin

Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Aneka Tanaman Industri

Jalan Raya Pakuwon km 2 Parungkuda, Sukabumi 43357

balittri@gmail.com

(Diajukan tanggal 1 April 2011, diterima tanggal 1 Juni 2011)

ABSTRAK

Produksi jambu mete di Indonesia masih rendah (300-463 kg/ha/tahun) di antaranya disebabkan oleh penggunaan bahan tanaman tidak unggul. Pencarian sumber benih baru dengan tingkat produktivitas mutu tinggi memerlukan materi genetik dengan keragaman genetik luas. Salah satu cara untuk mengetahui keragaman genetik dan hubungan kekerabatan serta mendeteksi pohon induk yang mempunyai karakter spesifik seperti produksi tinggi adalah dengan menggunakan RAPD. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui tingkat kekerabatan dan keragaman genetik koleksi plasma nutfah jambu mete berdasarkan profil pita DNA menggunakan teknik RAPD. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biologi Molekuler BB-Biogen, Bogor mulai bulan Mei sampai November 2009. Materi genetik yang digunakan adalah: MR 851, PK 36, GG1, Laode Kase, Laode Kapala, JT 27, Arsyad Labone, Wonogiri merah, A x S, F x M, SM 9, C x M, F x A, dan BO2 dengan menggunakan 25 primer. Lingkup kegiatan meliputi pengumpulan koleksi plasma nutfah jambu mete (14 aksesi), dilanjutkan dengan kegiatan di Laboratorium dengan tahapan kegiatan seperti: Ekstraksi dan purifikasi DNA, *loading* dan *running* produk PCR analisis RAPD, dan analisis data. Hasil penelitian menunjukkan dari 25 primer yang diuji, diperoleh 16 primer yang memberikan pita DNA, satu di antaranya monomorfisme. Ada satu primer spesifik yang menunjukkan pola pita khusus pada jambu mete yaitu pada BO2, SM9 dan JT27. Koleksi plasma nutfah tanaman jambu mete mempunyai keragaman genetik yang tinggi. Pada koefisien 70%, 14 aksesi jambu mete tersebut mengelompok menjadi tiga. Kelompok pertama terdiri dari 11 individu (MR 851, PK 36, Laode Kase, GG1, Laode Kapala, A x S, F x A, C x M, Arsyad Labone, Wonogiri Merah, dan F x M). Pada kelompok ini juga terlihat adanya variasi genetik di antara individu yang membentuk sub kelompok 11 individu. Kelompok kedua terdiri 2 individu (BO2 dan SM9), sedangkan kelompok ketiga 1 individu (JT 27).

Kata Kunci : *Anacardium occidentale* L., variabilitas, varietas unggul, hibrida, RAPD.

ABSTRACT

Genetic Relationship of Cashew Germplasm Based on Random Amplified Polymorphic DNA. Cashew production in Indonesia still low (300-463 kg/ha/year) caused by genetic materials used for the cultivation were not superior variety, therefore, some effort to find superior variety with high production must be improved. To support those efforts needs wide variation of plant genetic resources. Nowadays, characteristic data of cashew germplasm in BALITTRI based on morphological characters, so needed molecular approach to get genetic characteristics, genetic relationship and specific characters such as high production marker, one of some techniques that we can use is RAPD marker. Additionally, RAPD marker is simple, efficient and accurate. The purpose of this study was to know the genetic variation and relationship among cashew germplasm based on band pattern of DNA by using RAPD technique. The experiment was conducted at Molecular Biology Laboratory of BB-Biogen, Bogor since May till November 2009. Genetic material used were MR 851, PK 36, GG1, Laode Kase, Laode Kapala, JT 27, Arsyad Labone, Wonogiri Merah, A x S, F x M, SM 9, C x M, F x A and BO2 by using 25 primers. The activity consisting germplasm collecting of cashew (14 accessions), followed laboratory activities such as: DNA extraction and purification, loading and running of PCR product, RAPD and data analysis. Results shows that 25 primers used are 16 primers shown DNA band pattern, one of them was monomorphism and one specific primer which shown DNA band pattern of cashew, i.e: BO2, SM9 and JT27. Germplasm collection of cashew has wide variation. At 70% coefficient, 14 accessions of cashew were divided to three groups where first group were content 11 individual (MR 851, PK 36, Laode Kase, GG1, Laode Kapala, A x S, F x A, C x M, Arsyad Labone, Wonogiri Merah, and F x M), while second group were content two individuals (BO2 and SM9). Moreover, in first group itself shown wide variation among 11 accessions.

Keywords : *Anacardium occidentale* L., variability, superior variety, hybrid, RAPD.

PENDAHULUAN

Jambu mete (*Anacardium occidentale* L.) bukan merupakan tanaman asli Indonesia, diintroduksi ke Indonesia oleh Portugis melalui Ambon dan sekitarnya, tetapi sudah banyak dikenal dan dibudidayakan secara luas terutama di kawasan Timur Indonesia.

Pengembangan jambu mete tahun 2009 mencapai 572.870 ha dengan produksi 147.403 ton gelondong (Ditjenbun, 2010). Daerah yang sebelumnya marginal dan beriklim kering saat ini sudah menjadi sentra produksi jambu mete yaitu Nusa Tenggara Timur (173.150 ha), Sulawesi Tenggara (120.263 ha), Sulawesi Selatan (65.114 ha), Nusa Tenggara Barat (67.274 ha), Jawa Timur (48.284 ha), Jawa Tengah (26.308 ha), Daerah Istimewa Yogyakarta (21.171 ha), Sulawesi Tengah (18.378 ha), Bali (11.096), Papua (3.331 ha), Maluku (5.239 ha), Maluku Utara (5.694 ha), dan Gorontalo (3.183 ha) (Ditjenbun, 2010). Pengembangan jambu mete selain untuk rehabilitasi tanah kritis juga untuk tujuan produksi dan ekspor. Ekspor jambu mete tahun 2009 mencapai 68.767 ton senilai US \$ 82,65 juta, sebagian besar (88%) dalam bentuk gelondong (kernel) dengan negara tujuan utama adalah India, Srilanka, Jepang, Singapura, Taiwan, China, Malaysia, Kanada, Inggris, Amerika dan Jerman. Selain gelondong, produk jambu mete yang mempunyai nilai ekonomi diantaranya adalah CNSL yang diekstrak dari kulit gelondong untuk keperluan industri (minyak rem), buah semu untuk buah segar, bahan sirup atau selai dan pakan ternak, kulit batang untuk obat diare dan daun pucuk untuk lalap.

Produksi jambu mete di Indonesia masih tergolong rendah yaitu hanya 300 – 463 kg/ha/tahun (Ditjenbun, 2010), sedangkan negara penghasil jambu mete lain seperti India telah mencapai 800 – 1000 kg/ha/tahun (Rao, 1998) dan Vietnam 700 kg/ha/tahun (Chau, 1998). Produksi yang rendah tersebut di antaranya disebabkan oleh: (1) bahan tanaman yang digunakan tidak unggul, (2) perawatan tanaman kurang, dan (3) gangguan hama dan penyakit. Penggunaan bahan tanaman unggul dan penerapan teknologi budidaya yang memadai dapat meningkatkan produktivitas jambu mete seperti yang terjadi di India dimana sebelumnya hanya 600

kg/ha/tahun (Rao, 1998). Upaya serupa juga berlangsung di beberapa negara penghasil jambu mete, seperti di Thailand (Chaikiattiyos, 1998), China (Kangde *et al.*, 1998), Myanmar (Lay, 1998) dan Filipina (Magboo, 1998).

Upaya pencarian sumber benih baru dengan tingkat produktivitas mutu tinggi perlu terus ditingkatkan. Untuk mendukung hal tersebut diperlukan materi genetik dengan keragaman genetik luas. Di Kebun Percobaan Cikampek saat ini terdapat 178 aksesori koleksi plasma nutfah jambu mete dan yang sudah dilepas di antaranya GG1, PK36, MR851, BO2 dan SM9. Disamping itu di Kebun Percobaan Muktiharjo Pati terdapat koleksi plasma nutfah hasil persilangan dari beberapa aksesori jambu mete diantaranya telah dilakukan karakter morfologi dan dimanfaatkan dalam program pemuliaan jambu mete.

Penampilan suatu karakter ditentukan oleh faktor genetik lingkungan dan interaksi antara genetik dan lingkungan. Pemilihan tanaman berdasarkan atas fenotipei memiliki kelemahan dan kekurangan karena karakter tersebut dipengaruhi oleh faktor lingkungan. Penemuan teknik dalam memperoleh gen yang mengendalikan suatu karakter sebagai penanda atau marka molekuler sangat membantu efektivitas maupun efisiensi proses seleksi. Hal ini dapat memutus proses panjang dalam pemuliaan konvensional mengingat jambu mete merupakan tanaman tahunan.

Salah satu cara untuk mengetahui berapa besar keragaman genetik dan hubungan kekerabatan diantara koleksi plasma nutfah jambu mete adalah dengan menggunakan *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD). RAPD merupakan marka molekuler yang efisien dan cukup akurat. Marka DNA ini dapat digunakan sebagai indikator seleksi tanpa dipengaruhi lingkungan, sehingga memungkinkan untuk digunakan dalam mengindikasikan aksesori jambu mete koleksi plasma nutfah, hasil persilangan atau yang berasal dari daerah lain tanpa menunggu tanaman tersebut berproduksi. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui keragaman genetik, hubungan kekerabatan dan identifikasi kultivar.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler, BB-Biogen, Bogor mulai bulan

Mei sampai Nopember 2009. Materi genetik yang digunakan dalam penelitian ini adalah 14 aksesori plasma nutfah jambu mete (MR 851, PK 36, GG1, Laode Kase, Laode Kapala, JT 27, Arsyad Labone, Wonogiri merah, A x S, F x M, SM 9, C x M, F x A, dan BO2) dengan menggunakan 25 primer.

Lingkup kegiatan penelitian ini meliputi pengumpulan koleksi plasma nutfah jambu mete (14 aksesori) yang dilanjutkan dengan kegiatan di laboratorium, yaitu ekstraksi dan purifikasi DNA, *loading* dan *running* produksi PCR, analisis RAPD dan analisis data.

Ekstraksi dan Purifikasi DNA

DNA diekstraksi dari daun muda (0.3 g) untuk setiap aksesori plasma nutfah jambu mete menurut metode Orozco-Castillo *et al.* (1994) yang dimodifikasi dengan penambahan antioksidan polyvinilpolypirrolidone (PVPP) dan mercaptoethanol dicampurkan pada saat penggerusan dengan menggunakan mortar steril. Gerusan daun dimasukkan ke dalam tabung eppendorf 2 ml, ditambahkan buffer ekstraksi CTAB sebanyak 400 µl, divortex selama 2-3 menit, disentrifuge, kemudian diinkubasikan dalam air hangat ($\pm 60^{\circ}\text{C}$) selama 10 menit.

Purifikasi DNA dilakukan dengan menambahkan 300 µl campuran chloroform:isoamilalkohol (24:1), divortex sampai rata, kemudian disentrifuge pada kecepatan 15.000 rpm pada suhu 25°C selama 10 menit, selanjutnya supernatan dipindahkan ke dalam tabung eppendorf yang baru dengan menggunakan pipet dan ditambahkan Isopropanol 300 µl dan digoyang perlahan sampai rata, disentrifuge selama 20 menit dengan kecepatan 15.000 rpm pada temperatur 4°C . Supernatan dibuang, endapan DNA dicuci dengan 70% etanol sebanyak dua kali, disentrifuge selama 5 menit pada kecepatan 15.000 rpm dengan suhu 4°C , kemudian cairan etanol dibuang dan pelet DNA dikeringanginkan, selanjutnya dilarutkan dalam 50 µL bufer TE (10mM Tris-HCL, 1mM EDTA, pH 7.5), diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 jam dan ditambahkan 1 µL RNase A (10 mg/mL). DNA disimpan dalam refrigerator sampai siap digunakan.

Loading dan running produk PCR dan Analisis RAPD

PCR dibuat dengan volume 20 µL yang mengandung 50 ng DNA dari setiap aksesori, 10 pmoles primer DNA (0.4 µM), 10 nM setiap dNTP, 1 U *Taq* polimerase (Pomega) dan 2.5 µL *Taq* polimerase 10x bufer Promega (500 mM KCL, 15 mM MgCl₂, 100 mM Tris-HCl pH 9.0). Primer dekamer dari *Operon Technologies* (Alameda, CA) digunakan dalam percobaan ini. Campuran reaksi PCR contoh dalam tabung eppendorf selanjutnya dilapisi dengan 1 tetes minyak mineral. Reaksi amplifikasi DNA dilakukan menggunakan *Thermolyne II Thermal Cycler*, dengan kondisi PCR sebagai berikut: satu siklus 3 menit pada suhu 94°C dan diikuti dengan 45 siklus selama 1 menit pada suhu 94°C (denaturasi), 1 menit pada suhu 37°C (*annealing*), 2 menit pada suhu 72°C (ekstensi). Seluruh produk amplifikasi DNA dilengkapi dengan ekstensi selama 1 menit pada suhu 72°C . Setelah amplifikasi, produknya kemudian dielektroforesis pada konsentrasi agarose 1.5%, konsentrasi ethidium 0.005% (pada buffer) dan 0.00625% (pada agar), larutan 1x TBE buffer dan dialirkan pada tegangan listrik 121 Volt selama 3-4 jam, hasil elektroforesis difoto menggunakan BIO-RAD Gel Doc™ EQ.

Analisis Data

Data yang diperoleh berdasarkan hasil *scoring* pita amplifikasi dengan klasifikasi "1" bila terdapat pita hasil amplifikasi, dan "0" bila tidak terdapat pita hasil amplifikasi. Data kemudian dianalisis dengan program NTSYS-pc (*Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System, Version 2.10*) (Rohlf, 2000). Jarak genetik digunakan untuk analisis kluster menggunakan metode UPGMA (*unweighted pair-group with arithmetic average*).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi dan purifikasi DNA

Tanaman tahunan pada umumnya banyak mengandung senyawa metabolit sekunder yang cukup tinggi, seperti getah dan polifenol, demikian juga dengan tanaman jambu mete, maka perlu dilakukan modifikasi teknik dan penggunaan bahan kimia pada saat ekstraksi dan isolasi DNA untuk

mendapatkan kuantitas DNA yang banyak dengan kualitas yang tinggi.

Senyawa polifenol seringkali menimbulkan masalah pada saat dilakukan proses ekstraksi dan isolasi DNA. Senyawa polifenol merupakan kontaminan yang mengganggu dan sering menyebabkan kegagalan isolasi dan pemurnian DNA. Hal seperti ini sering ditemui pada tanaman lain, di antaranya gambir (Fauza *et al.*, 2007) dan kemiri sunan (Syafaruddin dan Santoso, 2011). Kontaminan yang tercampur pada DNA dapat menghambat reaksi amplifikasi, sehingga kuantitas dan kualitas DNA yang dihasilkan menjadi sangat rendah. Namun demikian, permasalahan di atas berhasil diatasi dengan cara melakukan penambahan RNase dan pemurnian berulang-ulang, sehingga amplifikasi DNA dapat dilakukan dan dapat digunakan untuk analisa selanjutnya.

Berdasarkan hasil pengecekan kualitas dan kuantitas dengan spektrofotometer menunjukkan bahwa DNA yang diperoleh dari sampel daun jambu mete memperlihatkan kualitas dan kuantitas DNA yang cukup baik. Kuantitas DNA yang diperoleh mempunyai kisaran antara 1090.7 – 2452.5 ng/ul. Jumlah DNA yang dihasilkan cukup banyak, sehingga lebih dari cukup untuk digunakan dalam analisis PCR. Kualitas DNA berada pada

kisaran angka dimana DNA dikatakan murni yaitu antara 1.80 – 1.91 (Syafaruddin dan Santoso, 2011). Sambrook and Russel Dampak Perubahan Iklim pada Tanaman Jambu Mete dan Upaya Penanggulangannya (1989) bahwa DNA dikatakan murni apabila mempunyai angka A260/A280 dalam kisaran 1.8 – 2.0.

Primer dan tingkat polimorfisme

Dari 25 primer yang digunakan untuk mengamplifikasi DNA 14 sampel jambu mete, 16 primer memberikan produk amplifikasi dimana 15 diantaranya menunjukkan adanya polimorfisme dan satu primer monomorfis (primer OPD-16) (Tabel 1). Jumlah pita yang dihasilkan bervariasi antara 1 – 7 pita dan berukuran antara 100-2000 bp. Untuk tanaman lainnya, seperti lada menghasilkan 1 – 8 pita dengan ukuran 100 – 2000 kb (Syafaruddin dan Tresniawati, 2011), pada kelapa diperoleh antara 4 – 10 fragmen DNA per primer (Matondang *et al.*, 2001). Tanaman karet menghasilkan 5 – 11 fragmen per primer (Nurhaim-Haris *et al.*, 1998). Demikian juga analisis RAPD pada DNA kopi menghasilkan 1 – 7 fragmen, sedangkan DNA kakao menghasilkan 2 – 8 fragmen per primer (Toruan-Mathius dan Hutabarat, 1996; Toruan-Mathius *et al.*, 1997).

Tabel 1. Nama primer dan sekuen nukleotida yang digunakan untuk PCR-RAPD serta informasi polimorfisme
Table 1. Primer name and nucleotide sequence used for PCR-RAPD and polymorphism information

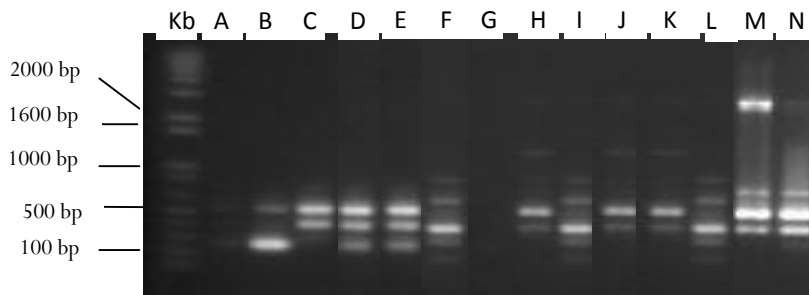
No.	Nama Primer	Sekuen (5' – 3')	Polimorfisme	Jumlah pita
1.	OPA-02	TGCCGAGCTG	-	Tidak keluar pita
2.	OPB-04	GGAAGTGGAGT	P	1-5
3.	OPB-10	CTGCTGGGAC	-	Tidak keluar pita
4.	OPB-17	AGGGAACGAG	P	2-3
5.	OPC-03	GGGGGTCTTT	P	2-3
6.	OPC-20	ACTTCGCCAC	-	Tidak keluar pita
7.	OPD-16	AGGGCGTAAG	M	2
8.	OPE-09	CTTCACCCGA	P	1-5
9.	OPF-13	GGCTGCAGAA	P	2-6
10.	OPG-18	GGCTCATGTG	P	3-5
11.	OPH-02	TCGGACGTGA	-	Tidak keluar pita
12.	OPH-04	GGAAGTCGCC	P	1-4
13.	OPH-07	CTGCATCGTG	-	Tidak keluar pita
14.	OPF-01	ACGGATCCTG	-	Tidak keluar pita
15.	OPH-10	CCTACGTCAG	P	2-4
16.	OPH-14	ACCAGGTTGG	P	2-4
17.	OPH-17	CACTCTCCTC	-	Tidak keluar pita
18.	OPJ-20	AAGCGGCCTC	P	4-7
19.	OPM-12	GGGACGTTGG	P	1-4
20.	OPM-15	GACCTACCAC	P	3-5
21.	OPN-16	AAGCGACCTG	-	Tidak keluar pita
22.	OPN-06	GAGACGCACA	P	2-4
23.	OPN-20	GGTGCTCCGT	-	Tidak keluar pita
24.	OPN-15	CAGCGACCTG	P	1-4
25.	OPS-09	TCCTGGTCCC	P	1-3

Keterangan: P = Polimorfisme; M = Monomorfisme

Dari penelitian diketahui, ada sembilan primer yang tidak menghasilkan pita DNA, yaitu OPA-02, OPB-10, OPC-20, OPH-02, OPH-07, OPF-01, OPH-17, OPN-16 dan OPN-20. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh tidak adanya sekuen komplementer pada DNA genom atau hanya ada satu untai yang mengandung sekuen komplementer dengan primer tersebut. Menurut William *et al.* (1990), salah satu syarat utama terjadinya amplifikasi DNA dengan satu primer acak adalah jika primer tersebut mempunyai urutan basa nukleotida yang komplementer dengan kedua untai DNA genom pada posisi yang berlawanan. Nurhaimi dan Darussmin (1997), menyatakan bahwa amplifikasi DNA tidak terjadi apabila komplemen urutan basa nukleotida DNA cetakan terdapat pada jarak yang jauh. Amplifikasi DNA dengan PCR akan terjadi apabila komplemen basa primer dengan urutan basa DNA cetakan jaraknya tidak melebihi 5.000 bp.

Analisis PCR

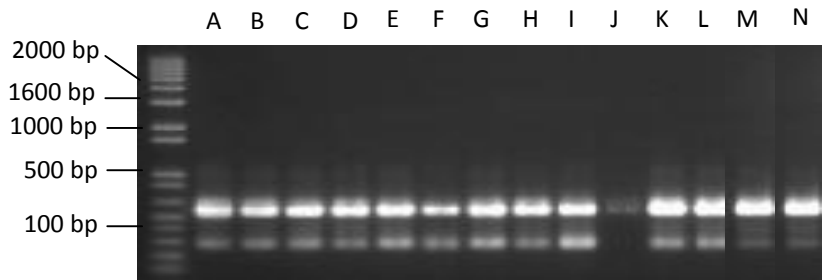
Pola pita 14 aksesi plasma nutfah jambu mete dengan menggunakan primer OPB-04 dan primer OPB-17 ditampilkan pada Gambar 1 dan 2.



Keterangan: A = MR851, B = PK 36, C = GG1, D = Laode Kase, E = Laode Kapala, F = JT27, G = Arsyad Labone, H = Wonogiri Merah, I = BO2, J = A (Tegineneng) x S (Segayung), K = F (Jepara) x M (Madura), L = SM9, M = C (Wonogiri) x M (Madura), dan N = F (Jepara) x A (Tegineneng)

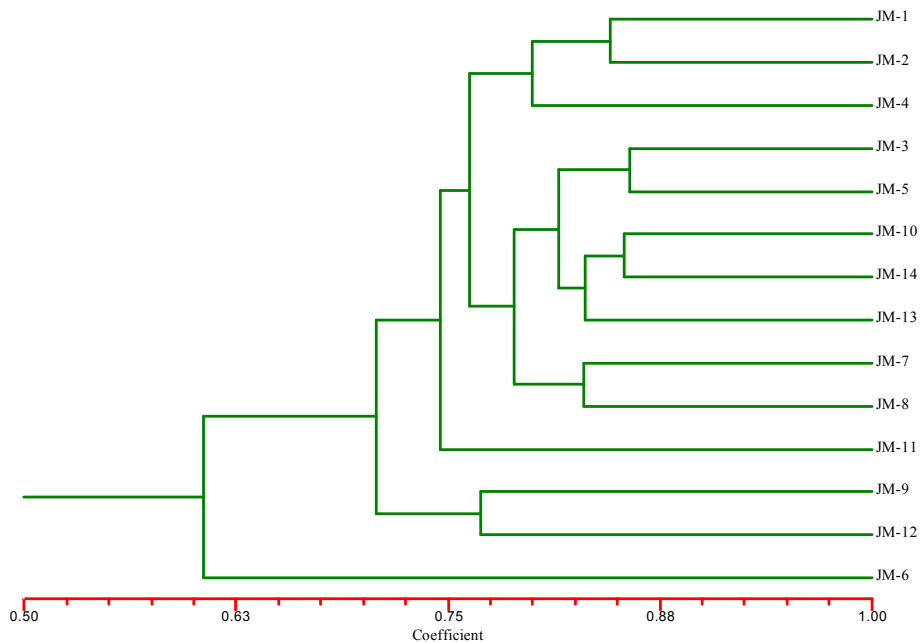
Gambar 1. Pola pita dari 14 koleksi plasma nutfah jambu mete menggunakan primer OPB-04, menunjukkan pola pita spesifik sebagai aksesi produksi tinggi

Figure 1. Band pattern of 14 accessions of cashew germplasm collection by using primer OPB-04 shown specific band pattern of high production marker



Keterangan: A = MR851, B = PK 36, C = GG1, D = Laode Kase, E = Laode Kapala, F = JT27, G = Arsyad Labone, H = Wonogiri Merah, I = BO2, J = A (Tegineneng) x S (Segayung), K = F (Jepara) x M (Madura), L = SM9, M = C (Wonogiri) x M (Madura), dan N = F (Jepara) x A (Tegineneng)

Gambar 2. Primer OPB-17 mengidentifikasi pola pita dari 14 aksesi jambu mete yang diuji
 Figure 2. Primer OPB-17 identifying band pattern of 14 accessions of cashew germplasm collection



Keterangan: Jm1= MR851, JM2 = PK 36, JM3 = GG1, JM4 = Laode Kase, JM5 = Laode Kapala, JM6 = JT27, JM7 = Arsyad Labone, JM8 = Wonogiri merah, JM9 = BO2, JM10 = A (Tegineneng) x S (Segayung), JM11 = F (Jepara) x M (Madura), JM12 =SM9, JM13 = C (Wonogiri) x M (Madura), dan JM14 = F (Jepara) x A (Tegineneng)

Gambar 3. Hasil analisis hubungan kekerabatan 14 aksesi jambu mete dengan program NTSys 2.1
 Figure 3. Dendrogram of genetic relationships of 14 cashew germplasm by using NTSys 2.1 program.

KESIMPULAN DAN SARAN

Koleksi plasma nutfah tanaman jambu mete mempunyai keragaman genetik yang tinggi. Pada koefisien 70%, 14 aksesi jambu mete mengelompok menjadi tiga: kelompok pertama terdiri dari 11 individu (MR 851, PK 36, Laode

Kase, GG1, Laode Kapala, A x S, F x A, C x M, Arsyad Labone, Wonogiri Merah, dan F x M), kelompok kedua terdiri dari dua individu (BO2 dan SM9) dan kelompok ketiga terdiri dari satu individu (JT 27). Pada kelompok pertama terlihat variasi genetik di antara individu membentuk sub kelompok (11 individu). Dari 25 primer yang diuji,

diperoleh 16 primer yang memberikan pita DNA, satu di antaranya monomorfisme. Ada satu primer spesifik yang menunjukkan pola pita khusus pada jambu mete yaitu pada BO2, SM9 dan JT27.

Kegiatan selanjutnya disarankan untuk mengeksplor primer yang lain untuk mencari kemungkinan adanya primer spesifik yang dapat mendeteksi pola pita untuk karakter spesifik pada tanaman jambu mete.

DAFTAR PUSTAKA

- Chau, N.M. 1998. Integrated production practices of cashew in Vietnam. FAO, Reg. Office for Asia and the Pacific, Bangkok, Thailand.
- Chaikiattayos, S. 1998. Integrated production practices of cashew in Thailand. Integrated production of cashew in Asia . FAO-Regional office for Asia and The Pacific. Bangkok. Thailand : 61-67.
- Ditjenbun. 2010. Statistik Perkebunan Indonesia tahun 2009. Departemen Pertanian. Direktorat Jenderal Perkebunan. Jakarta.
- Fauza, H., I. Ferita, M.H. Karmana, N. Rostini dan R. Setiamihardja. 2007. Variabilitas genetik tanaman gambir berdasarkan marka RAPD. Zuriat 18 (2): 93-99.
- Kangde, L.L., Shibang, and Shuisheng. 1998. Integrated production practices of cashew in China. Integrated production of cashew in Asia . FAO-Regional office for Asia and The Pacific. Bangkok. Thailand : 6-14.
- Lay, M.M. 1998. Integrated production practices of cashew in Myanmar. Integrated production of cashew in Asia . FAO-Regional office for Asia and The Pacific. Bangkok. Thailand : 104-112.
- Magboo, C.A.E. 1998. Integrated production practices of cashew in Philippines. Integrated production of cashew in Asia . FAO-Regional office for Asia and The Pacific. Bangkok. Thailand : 104-112.
- Matondang, I., Suharsono dan A. Hartana. 2001. Analisis keanekaragaman genetic kelapa dalam asal Maluku menggunakan teknik Random Amplified Polymorphic DNA. Hayati. 8: 31 – 34.
- Nurhaimi-Haris and A. Darussamin. 1997. RAPD analysis of oil palm clones with normal and abnormal fruits. Menara Perkebunan. 66 (1): 64-74.
- Nurhaimi-Haris, S. Woelan dan A. Darussamin. 1998. RAPD analysis of genetic variability in plant rubber (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.) clones. Menara Perkebunan. 66 (1): 9 – 19.
- Orozco-Castillo, K., J.Chalmers, R.Waugh, and W. Powell. 1994. Detection of genetic diversity and selective gene introgression in coffee using RAPD markers. Theor. Appl. Gent., 87 : 934 - 940
- Rao, E.V.V.B. 1998. Integrated production of cashew in India. In. Integr. Prod. Pract of Cashew in Asia. FAO-Reg. Off. for Asia and The Pacific. Bangkok, Thailand. P 15-25.
- Rohlf, F.J. 2000. NT SYS-pc: Numerical taxonomy and multivariate analysis system Version 2.1. User Guide. Department of Ecology and Evolution State University of New York.
- Roslim, D. I., A. Hartana dan Suharsono. 2003. Kemiripan genetika tiga populasi kelapa tipe dalam berdasarkan tiga metode analisis data penanda RAPD. hayati. 10: 12 – 18.
- Sambrook J. and D.W. Russel. 1989. Molecular Cloning: A Laboratory Manual. New York: Cold-Spring Harbor Laboratory Pr.
- Syafaruddin dan T.J. Santoso. 2011. Optimasi teknik isolasi dan purifikasi DNA yang efisien dan efektif pada kemiri sunan (*Reutalis trisperma* (Blanco) Airy Shaw). Jurnal Penelitian Tanaman Industri 17 (1): 11-17.

- Syafaruddin dan C. Tresniawati. 2011. Variabilitas genetik plasma nutfah lada (*Piper nigrum* L.) berdasarkan marka random amplified polymorphic DNA (RAPD). Buletin Littri. *Accepted (in prosessing)*.
- Toruan-Mathius, N. dan T. Hutabarat. 1996. Penanda RAPD dan polimorfisme genetik tanaman kopi robusta (*Coffea canephora*) toleran terhadap cekaman air. Menara Perkebunan. 64 (2): 45 –55.
- Toruan-Mathius, N., T. Hutabarat, and D. Suhendi. 1997. The use of RAPD to evaluate genetic variability of hybrid parent in *Theobroma cacao* L. plants. Menara Perkebunan. 65 (2), 53 –63.
- Williams, J.G.K., A.R.K. Kubelik, J.L. Livak, J.A. Rafalski, and S.V. Tingey. 1990. DNA polymorphisms amplified by random primers are useful as genetic markers. Nucl. Acid Res. 18: 6531-6535.