

**KERAGAMAN GENETIKA POPULASI PELAHLAR
(*Dipterocarpus littoralis* (Bl.) Kurz) DIPULAU NUSAKAMBANGAN
BERDASARKAN PROFIL ENHANCED RANDOM AMPLIFIED
POLYMORPHIC DNA¹
[Population Genetic Diversity of Pelahlar (*Dipterocarpus littoralis* (Bl.) Kurz)
in Nusakambangan Island Based on Enhanced Random Amplified Polymorphic DNA]**

Kusumadewi Sri Yulita^{w*} dan Tukirin Partomihardjo

Bidang Botani, Pusat Penelitian Biologi - LIPI

Cibinong Science Centre Jl. Raya Jakarta-Bogor Km.46 Cibinong 16911

* e-mail: yulita.kusumadewi@gmail.com

ABSTRACT

Dipterocarpus littoralis is a commercial timber species endemic to Nusakambangan island. Their existence is under severe threat due to habitat conversion and illegal logging. This study aimed to assess genetic diversity of this species within and among populations using E-RAPD. Three arbitrary RAPD primers were modified by addition of two nucleotides at their 5' termini. E-RAPD profiles were obtained by performing PCR amplification using the modified primers. Forty-five putative loci of E-RAPD were scored and analysed using POPGENE software. Some of the RAPD bands (OPA 9E-200 and 850 bp) were distinctively found for population 2, thus it served as population diagnostic marker for this population. Genetic diversity within population (0.1540) was higher than that of among populations (0.0418). Genetic differentiation (*Gst*) indicated that 21.35% of total genetic diversity in *D. littoralis* was attributed to the differences among populations. The highest genetic diversity was found in population 2 (*He*:0.1923; 1:0.3158), while the lowest genetic variation was observed in population 1 (*He*: 0.0828; 1: 0.1209). Total genetic diversity for all population (*Ht*) was 0.1958 with an average value of genetic diversity within populations (*Hs*) was 0.1540. This fact suggested high level of genetic diversity found on these relic populations.

Keywords: genetic diversity, populations, pelahlar, *Dipterocarpus littoralis*, RAPD.

ABSTRAK

Dipterocarpus littoralis (pelahlar) merupakan salah satu jenis kayu komersial endemik di Pulau Nusakambangan. Keberadaan jenis ini sedang terancam kepunahan akibat alih lahan dan penebangan liar. Penelitian ini bertujuan untuk memperkirakan keragaman genetik populasi pelahlar menggunakan tiga buah primer Random Amplified Polymorfie DNA (RAPD) yang telah dimodifikasi dengan penambahan dua nukleotida salah satu ujungnya yang terletak pada arah 5'. Amplifikasi PCR dilakukan dengan menggunakan ketiga primer tersebut dan menghasilkan 45 pita RAPD. Beberapa pita RAPD (OPA 9E ukuran 200 dan 850 bp) hanya dijumpai di populasi 2, dengan demikian pita ini merupakan penanda diagnostik untuk populasi ini. Keragaman genetik dalam populasi (0.1540) lebih tinggi daripada antar populasi (0.0418). Sedangkan nilai diferensiasi genetik (*Gst*) menunjukkan bahwa 21.35% keragaman genetik total pada *D. littoralis* disebabkan oleh diferensiasi antar populasi. Keragaman genetik tertinggi dijumpai pada populasi 2 (*He*:0.1923; 1:0.3158), sedangkan keragaman yang terendah tercatat pada populasi 1 (*He*: 0.0828; 1: 0.1209). Keragaman genetik total pada seluruh populasi (*Ht*) sebesar 0.1958, dengan keragaman genetik rata-rata dalam populasi (*Hs*) sebesar 0.1540. Hal ini menunjukkan tingginya keragaman genetik pada populasi relik ini.

Kata Kunci: keragaman genetik, populasi, pelahlar, *Dipterocarpus littoralis*, RAPD.

PENDAHULUAN

Dipterocarpus littoralis, yang dikenal dengan nama lokal pelahlar, merupakan salah satu jenis dari suku Meranti-merantian (*Dipterocarpaceae*) penghasil kayu komersil. Jenis ini endemik di Nusakambangan (Ashton, 1982) yakni sebuah pulau yang terletak di seberang pantai selatan Jawa Tengah. Jenis ini diduga merupakan segregasi dari *D. retusus* yang memiliki sebaran lebih luas (Ashton, 1982). Namun jenis ini sudah lama terisolasi secara ekologis dan geografis,

kemungkinan sejakjaman *Pleistocene*, sehinggajenis ini mengalami diversifikasi menjadijenis sendiri. Seperti halnya dengan jenis-jenis kayu komersil lainnya, jenis ini telah banyak dieksploitasi untuk diambil kayunya sehingga keberadaannya di Nusakambangan terancam punah. Selain itu perladangan liar yang kian meningkat membuat habitat alami populasi pelahlar kian berkurang. *Dipterocarpus littoralis* dikategorikan sebagai jenis terancam dengan status kritis (CR B1+2c, C2a) (IUCN, 2008).

Tindakan konservasi pelahlar perlu segera dilakukan dengan hati-hati agar kelangsungan hidup pelahlar dapat terjamin. Salah satu strategi konservasi yang perlu dilakukan adalah konservasi genetika, dimana tahap awalnya adalah melakukan kajian mengenai tingkat keragaman genetika populasi pelahlar. Pengetahuan tentang keragaman genetika populasi dapat dijadikan informasi untuk mengetahui diskursus evolusi tingkat mikro yang terjadi pada level genetika.

Keragaman genetika pada tingkat populasi/ individu/jenis dapat diestimasi melalui profil berbagai marka, baik molekuler maupun protein. Marka yang umum digunakan dalam mengkaji keragaman genetika antara lain Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD), Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP), Random Fragment Length Polymorphism (RFLP), Simple Sequence Repeats (SSRs), isozyme dan allozyme. Diantara marka ini, RAPD adalah marka molekuler yang relatif paling mudah dan cepat digunakan untuk berbagai tujuan, antara lain untuk identifikasi genotipe (Jimenez *et al*, 2002; Poerba *et al*, 2007) dan kultivar (Malik *et al*, 2006; Shabaan *et al*, 2006; Jain *et al.*, 2007) serta memperkirakan keragaman genetika jenis-jenis pohon kayu tropis

(Siregar *et al*, 2008; Rath *et al*, 1998; Poerba *et al*, 2007). Keuntungan utama dari RAPD adalah menghasilkan polimorfisme yang cukup tinggi, *random sampling* dalam genom total dan secara teknis cukup cepat dan mudah dilakukan. Kekurangan dari RAPD yaitu marka ini hanya mengamplifikasi alel dominan dan memiliki tingkat keberulangan yang rendah. Pada penelitian ini ditambahkan 2 basa disalah satu ujungnya (Enhanced RAPD/E-RAPD) dengan tujuan untuk mendapatkan produk PCR yang lebih spesifik dengan tingkat keberulangan yang lebih tinggi.

Hingga saat ini belum ada studi mengenai keragaman genetika pelahlar padahal ancaman kepunahan terhadap jenis endemik ini terus berlanjut. Studi ini bertujuan untuk mengetahui keragaman genetika pelahlar di Nusakambangan dengan menggunakan marka E-RAPD. Profil sidik E-RAPD yang didapat akan digunakan untuk mempelajari keragaman genetika populasi pelahlar.

BAHAN DAN CARA KERJA

Empat puluh empat sampel pelahlar digunakan dalam studi ini berasal dari enam populasi (Gambar 1) yang terdapat di bagian barat Cagar Alam



Gambar 1. Peta lokasi, angka putih menunjukkan lokasi setiap populasi

Tabel 1. Daftar sampel pelahlar yang digunakan untuk penelitian ini

Populasi	Keadaan topografi	Jumlah pohon induk	Jumlah anakan	Jumlah sampel
1	Datar	1	3	2
2	Sedikit terjal, pinggir sungai	3	10	9
3	Datar	2	10	10
4	Terjal	4	20	18
5	Terjal	1	2	2
6	Terjal	2	10	4
			Total	44

Nusakambangan. Luas kawasan Cagar Alam Nusakambangan sekitar 220 hektar dan lokasi koleksi pada setiap populasi luasnya antara 2 hingga 10 hektar. Populasi dipilih berdasarkan diskontinuitas sebaran pelahlar di Cagar Alam ini. Sampel ini dikoleksi dalam bentuk daun yang dikeringkan dalam *silica gel* (Tabel 1).

Ekstraksi total DNA genom

Ekstraksi DNA dilakukan dengan mengikuti protokol DNeasy Plant Minikit (Qiagen, Hilden, Germany). Lima μ L total DNA dielektroforesis dalam 0.7% gel agarosa dalam larutan penyangga TAE, kemudian diwarnai dengan Etidium Bromida, lalu divisualisasi menggunakan lampu ultraviolet untuk memastikan kuantitas dan kualitas DNA.

Analisis E-RAPD

Amplifikasi E-RAPD melalui reaksi PCR dilakukan dengan mengikuti protokol William *et al.* (1990) dengan menggunakan tiga primer RAPD (Operon Technology Ltd), yaitu OPA-9, OPB-10 dan OPN-18 yang dimodifikasi dengan penambahan 2 basa nukleotida di ujung arah 5'. Reaksi PCR dilakukan dua kali ulangan untuk memastikan konsistensi profil yang dihasilkan. Hasil amplifikasi PCR divisualisasi pada gel agarosa 2.0% dalam larutan penyangga TEA (Tris-EDTA) secara elektroforesis, kemudian difoto dengan menggunakan *gel documentation system* (Atto Bioinstrument). Sebagai standar digunakan 100 pb (pasang basa) DNA *ladder* (Promega) untuk menetapkan ukuran pita hasil amplifikasi DNA.

Analisis data

Setiap pita RAPD dianggap sebagai satu lokus putatif. Hanya lokus yang menunjukkan pita yang jelas yang diskor: ada (1) dan tidak ada (0). Matriks binari fenotip RAPD ini kemudian disusun untuk digunakan pada analisis keragaman genetika. Keragaman genetika dikalkulasi dengan menggunakan program POPGENE ver. 1.31 (Yeh *et al.* 1997) dibawah asumsi hukum keseimbangan Hardy-Weinberg.

Parameter yang digunakan untuk mengukur keragaman genetika dalam populasi adalah 1) Prosentase Lokus Polimorfik (PLP, Nei 1973); 2) Jumlah alel putatif per lokus (n_a); 3) Jumlah alel efektif per lokus/gene pool (n_e , Hartl and Clark, 1989); 4) keragaman genetika yang diharapkan ($h = \text{expected heterozygosity } H_e$; Nei, 1973) dan) keragaman fenotipik berdasarkan *Shannon's information index* (I ; Lewontin, 1972).

Sedangkan parameter yang digunakan untuk mengukur keragaman genetika antar populasi adalah 1) Nei's (1978) *unbiased measures of genetic distance*; 2) *the relative magnitude of differentiation among populations* ($G_{ST} = D_s/H_t$, Nei, 1978; 3) *gene flow* (N_m , Me Dermott and McDonald, 1993).

HASIL

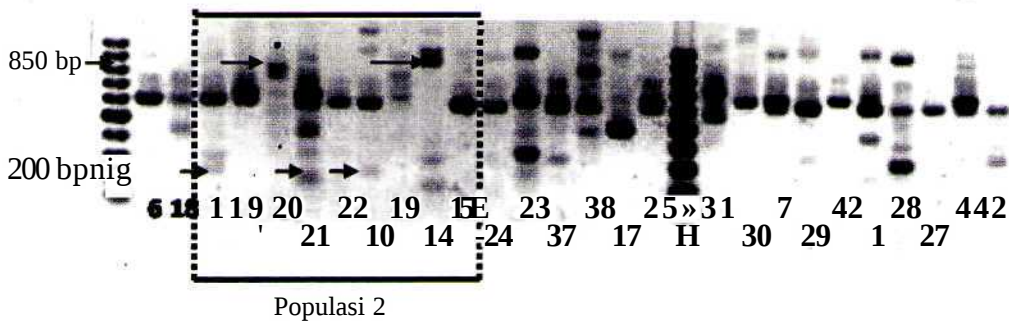
Profil dan distribusi E-RAPD di populasi

Diperoleh 45 fragmen DNA yang dihasilkan dari proses amplifikasi menggunakan tiga primer E-RAPD, yang berukuran dari 200 hingga 1300 pb dimana seluruhnya merupakan pita polimorfik (Tabel 2). Primer

Tabel 2. Sebaran pita polimorfik E-RAPD pada enam poputasi pelahlar di Nusakambangan.

Nama primer	Urutan DNA primer	Jumlah dan ukuran pita terpendek-terpanjang	Ukuran pita umum	Ukuran pita unik pada setiap populasi					
				1	2	3	4	5	6
OPA9E	TTGGGTAACGCC	16 (200-1150 pb)	-	-	200 850	-	-	-	-
OPB10E	CACTGCTGGGAC	18 (350-1300 pb)	-	-	-	-	-	-	-
OPN18E	A AGGTG AGGTC A	12 (200-1100 pb)	250	-	-	-	-	-	-
Jumlah		46	1	0	2	0	0	0	0

Urutan DNA primer E-RAPD dengan huruf tebal adalah dua nukleotida tambahan.



Gambar 2. Pita unik (tanda panah) yang ditemukan di populasi 2 berdasarkan marka E-RAPD OPA9E. Angka menunjukkan nomor sampel. M: Marka DNA (penanda ukuran pita DNA).

Tabel 3. Keragaman genetika setiap populasi pelahlar.

Populasi	Jumlah sampel	Jumlah lokus polimorfik	PLP (%)	na	ne	He	I
1	2	9	20.00	1.2000	1.2000	0.0828	0.1209
2	10	36	80.00	1.8000	1.2794	0.1923	0.3158
3	8	36	80.00	1.8000	1.2893	0.1919	0.3130
4	18	37	82.22	1.8222	1.2660	0.1785	0.2938
5	2	12	26.67	1.2667	1.1886	0.1105	0.1613
6	4	24	53.33	1.5333	1.2682	0.1678	0.2601

OPB 10E menghasilkan pita terbanyak (18) sedangkan primer OPN 18E menghasilkan pita tersedikit (11).

Variasi genetika yang ditemui pada penelitian ini berdasarkan perbedaan pola pita E-RAPD yang dijumpai pada individu pelahlar. Secara umum, 45 pita E-RAPD ini menyebar rata di seluruh individu pelahlar (Tabel 2). Namun ada pita-pita tertentu yang dijumpai di seluruh individu dan pita unik yang hanya dijumpai di populasi tertentu atau bahkan di individu tertentu.

Hanya ada satu pita yang dijumpai di seluruh

populasi, yaitu OPN 18E-250 pb. Pita umum lainnya yang dijumpai pada lima populasi adalah OPA9E ukuran 600,650 dan 1000pb; OPB10E ukuran 400,500,550, 800,900,1000, dan 1100 pb; OPN 18E ukuran 250,400, 600, dan 1100 pb. Sedangkan pita unik hanya ditemukan dari primer OPA9E, yaitu pada ukuran 200 dan 850 pb yang seluruhnya dijumpai di populasi 2 (Gambar 2)

Keragaman genetika

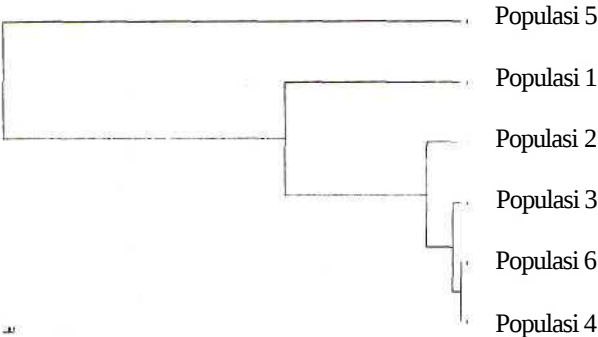
Jumlah individu yang dicuplik untuk sampel

Tabel 4. Nilai rerata keragaman genetika di enam populasi berdasarkan analisis Nei (1978).

	Ht	Hs	Gst	Dst	Nm
Rerata	0.1958±0.0192	0.1540± 0.0091	0.2135	0.0418	1.8424

Tabel 5. Jarak genetika berdasarkan Nei's Unbiased Measures.

Populasi						
	1	2	3	4	5	6
1	*					
2	0.0304	*				
3	0.0251	0.0037	*			
4	0.0264	0.0023	0.0003	*		
5	0.1538	0.0747	0.0590	0.0703	*	
6	0.0459	0.0131	0.0029	-0.0015	0.0552	*



Gambar 3. Dendrogram pengelompokkan UPGMA enam populasi pelahlar berdasarkan jarak genetika Nei (1978).

bervariasi antara 2 hingga 18 (Tabel 3). Keragaman genetika tertinggi berdasarkan parameter *He* (0.1923) dan / (0.3158) dijumpai pada populasi 2. Sedangkan berdasarkan parameter jumlah lokus polimorfik (37), PLP (82.22%) dan *na* (1.8222) ditemukan pada populasi 4 (Tabel 3). Keragaman genetika terendah berdasarkan seluruh parameter kecuali parameter *ne*, dijumpai pada populasi 1 (Tabel 3).

Jarak genetika dan analisis kluster

Nilai total keragaman genetika pada semua populasi (*Ht*) adalah 0.1958 dengan nilai rata-rata keragaman genetika dalam populasi (*Hs*) adalah 0.1540. Sedangkan nilai keragaman genetika antar populasi (*Dst*) adalah 0.0418, jauh lebih rendah dari kedua nilai diatas. Differensiasi genetika (*Gst*) yang ada antar populasi adalah 21.35% dan *gene flow* (*Nm*) yang

terjadi antar populasi 1.8424 (Tabel 4). Sedangkan nilai *Gst* untuk individual marka E-RAPD berkisar antara 0.0387 (OPA9E-350) -0.4911 (OPN18E-60).

Jarak genetika tertinggi (0.1538) tercatat antara populasi 5 dan 1, sedangkan jarak genetika yang terendah (-0.0015) tercatat antara populasi 4 dan 6 (Tabel 5).

Dendrogram UPGMA (Gambar 3) menyajikan gambaran kesamaan genetika keenam populasi berdasarkan matriks jarak genetika Nei (1978) (Tabel 5). Tidak ada pembagian khusus tentang pengelompokkan populasi namun dendrogram lebih menunjukkan kepada kesamaan antar setiap populasi. Populasi 4 dan 6 memiliki kesamaan yang terbanyak, sesuai dengan jarak genetika yang cukup kecil (Tabel 5) diikuti oleh populasi 3, 2, 1 dan 5 -yang merupakan

populasi yang paling berbeda.

PEMBAHASAN

Modifikasi primer RAPD menjadi E-RAPD juga menghasilkan keberulangan yang memuaskan sehingga hal ini menunjukkan bahwa primer yang diseleksi dan dimodifikasi menghasilkan profil E-RAPD yang cukup konsisten.

Dari profil E-RAPD yang didapatkan ternyata ditemukan beberapa pita unik yang hanya terdapat pada individu atau populasi tertentu. Dengan demikian, pita-pita unik tersebut berpotensi dijadikan marka untuk identifikasi provenans. Namun demikian, untuk menjadikan E-RAPD sebagai marka diagnostik tingkat populasi masih perlu ditunjang studi lanjutan, karena jumlah sampel yang terdapat pada populasi 1 dan 5 - khususnya- masih sangat minim. Apabila jumlah sampel diperbanyak akan ada kemungkinan ditemukan pita-pita unik lainnya atau sebaliknya pita unik menjadi pita umum. Namun mengingat densitas pelahlar yang cukup kecil (antara 0.5-2 pohon/hektar) maka jumlah individu sampel yang didapatkan juga cukup kecil.

Nilai keragaman genetika tertinggi tercatat pada populasi 2 berdasarkan parameter H_e dan I , namun berdasarkan parameter Jumlah Lokus Polimorfik, PLP dan n_a , yang tertinggi adalah populasi 4. Populasi 4 memiliki jumlah individu sampel yang terbanyak (18). Semakin banyak jumlah individu kemungkinan semakin banyak pula jumlah alel, sehingga jumlah lokus polimorfik juga semakin banyak. Namun populasi 2 yang memiliki jumlah individu yang lebih sedikit (10) daripada populasi 4, memiliki nilai H_e dan I yang tertinggi. Hal ini kemungkinan karena jumlah alel homozigot pada populasi 4 lebih tinggi daripada populasi 2- yang sayangnya kondisi ini tidak dapat ditunjukkan melalui profil RAPD karena RAPD hanya mengenali alel dominan.

Nilai keragaman genetika terendah dijumpai pada populasi 1 dan 5. Kedua populasi ini memiliki jumlah individu terendah, masing-masing dua individu (Tabel 3), namun jumlah lokus polimorfik pada populasi 5 lebih banyak daripada populasi 1 sehingga nilai keragaman genetika pada populasi 5 lebih tinggi daripada populasi 1. Sedikitnya jumlah individu yang ditemukan pada populasi ini disebabkan oleh densitas

dan sebaran pelahlar yang tidak merata karena faktor topografi dan penebangan liar. Pada area yang topografinya cukup datar misalnya di populasi 1, jumlah pohon induk sangat sedikit karena banyak terjadi penebangan liar. Walaupun pohon induk yang tersisa masih mampu bereproduksi, namun jumlah populasi dan ukurannya terlalu kecil sehingga cenderung menghasilkan anakan yang relatif sedikit jumlahnya. Namun sebaliknya, populasi 4 letaknya pada topografi yang cenderung berbukit dan terjal sehingga menyulitkan akses untuk penebangan liar, dengan demikian jumlah individu yang bertahan hidup juga lebih besar. Pada lokasi ini masih dimungkinkan dijumpai beberapa pohon induk berukuran besar yang mampu menghasilkan cukup banyak anakan.

Sebagaimana halnya dengan jenis-jenis tumbuhan tropis, pelahlar adalah jenis yang menyerbuk silang. Jenis tumbuhan menyerbuk silang -terutama yang bersifat *selfincompatible*- memiliki potensi untuk terjadinya perpindahan gen yang ditunjukkan melalui tingginya tingkat keragaman genetika dalam populasi (Loveless and Hamrick, 1984; Hamrick and Godt, 1989; Pither *et al.*, 2003). Hasil penelitian ini juga mengindikasikan hal serupa yakni nilai keragaman genetika setiap populasi pelahlar jauh lebih tinggi dibanding nilai keragaman genetika antar populasi (Tabel 4). Nilai rerata keragaman genetika pelahlar adalah 0.1540. Nilai ini lebih rendah dibandingkan jenis *Dipterocarpaceae* lain, yaitu *Stemonoporus oblongifolius* (0.2970) menggunakan marka isozyme (Murawski dan Bawa, 1994).

Differensiasi genetika antar populasi pelahlar adalah 21.35%. Nilai ini lebih tinggi dibandingkan jenis-jenis *Dipterocarpaceae* lainnya, misalnya *Stemonoporus oblongifolius* (16%; Murawski dan Bawa, 1994), *Shorea trapezifolia* (11%; Bawa, 1998); dan *Hopea odorata* (10%; Wickneswari *et al.*, 1994). Tingginya differensiasi genetika antar populasi dapat disebabkan oleh *gene flow* dan seleksi lokal (Bawa, 1998). *Gene dispersal* melalui biji biasanya tidak dapat mencapai jarak yang jauh karena pelahlar biji berukuran cukup besar. Walaupun biji pelahlar bersayap, karena ukurannya yang cukup besar dan ada pengaruh gravitasi menyebabkan biji hanya jatuh disekitar pohon induk dan tidak dapat terpencar dalam jarak yang cukup

jauh. Sedangkan *gene flow* melalui polen sangat bergantung pada agen penyerbuk. Jenis-jenis *Dipterocarpaceae* memiliki bunga biseksual yang penyerbukannya dilakukan oleh serangga (Ashton, 1982; Bawa, 1998), memiliki masa berbunga yang pendek (hanya beberapa hari), dan serangga penyerbuk hanya dapat berpindah dalam jarak yang pendek (Ashton, 1982). Namun demikian, serangga penyerbuk pelahlar belum diketahui dengan pasti.

Selain itu di kawasan CA Nusakambangan ini telah banyak terjadi kerusakan habitat yang cukup parah yang menyebabkan ketidaksinambungan kanopi yang secara tidak langsung menghasilkan barier terhadap *gene flow*, terutama melalui polen.

KESIMPULAN

Studi keragaman genetika pelahlar di Nusakambangan telah dilakukan dengan menggunakan tiga marka E-RAPD OPA9E, OPB10E dan OPN 18E. Ketiga marka ini menghasilkan 45 pita polimorfik di seluruh populasi yang diamati. Diantara ke-45 pita ini hanya 1 pita umum yang dijumpai di seluruh populasi, yaitu OPN18E ukuran 250 pb. Sedangkan pita unik hanya dijumpai pada populasi 2, yaitu OPA9E ukuran 200 dan 850 pb. Profil sidik E-RAPD yang didapat akan digunakan untuk mempelajari keragaman genetik antar individu dan populasi pelahlar. Nilai keragaman genetika tertinggi tercatat pada populasi 2 berdasarkan parameter *He* dan *I*, namun berdasarkan parameter Jumlah Lokus Polimorfik, PLP dan *na* yang tertinggi adalah populasi 4. Sedangkan nilai keragaman genetika terendah dijumpai pada populasi 1. Tingginya keragaman genetika dalam populasi dan rendahnya keragaman genetika antar populasi menunjukkan bahwa perpindahan properti genetik pelahlar terjadi di dalam populasi kemungkinan akibat penyerbukan silang. Sedangkan tingginya differensiasi genetika pelahlar dibandingkan jenis-jenis *Dipterocarpaceae* lain kemungkinan disebabkan oleh keterbatasan *gene flow* baik melalui pencaran biji maupun polen.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Pusat Penelitian Biologi-LIPI melalui KSK Karakterisasi dan

valuasi pulau-pulau kecil EDIPA 2002-2004) yang telah membantu mendanai koleksi Palahlar di Pulau Nusakambangan, dan Laboratorium Genetika Tumbuhan Pusat Penelitian Biologi yang telah menyediakan fasilitas dan bahan untuk melaksanakan penelitian di lab. Kepada Sdri. Herlina yang telah membantu pekerjaan teknis di Lab dan kepada petugas lapangan yang telah membantu selama dilakukan koleksi di Nusakambangan.

DAFTAR PUSTAKA

- Ashton PS. 1982. Dipterocarpaceae. *Flora Malesiana Series I-Spermatophyta Flowering Plants* 9(2), 237-552.
- Bawa KS. 1998. Conservation of genetic resources in the Dipterocarpaceae. *Dalam: A Review opterocarps. Taxonomy, ecology and silviculture.* S Appanah and MJ Turnbull. CIFOR, Bogor, Indonesia, Pp. 45-55.
- Hamrick JL and MJW Godt, 1989. Allozyme diversity in plant species. *Dalam: Plant population genetics, breeding and genetic resources.* AHD Brown, MJ Clegg, AL Kahler, and BS Weir (Eds.). Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Hartl DL and AG Clark. 1989. Principles of population genetics. 2nd ed. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- IUCN. 2008. Red List of Endangered Species. International Union for the Conservation of Nature and Natural Resources, Gland, Switzerland. Available from URL: <http://www.iucnredlist.org/>
- Jain PK, L Saini, MH Pathak dan VK Gupta. 2007. Analysis of genetic variation in different banana (*Musa* species) variety using random amplified polymorphic DNAs (RAPDs). *African Journal of Biotechnology* 6 (17), 1987-1989.
- Jimenez JF, P Sanchez-Gomez, J Guemes, O Werner and JA Rossello. 2002. Genetic variability in a narrow endemic snapdragon (*Antirrhinum subaeticum*, *Schrophulariaceae*) using RAPD markers. *Heredity* 89(5), 387-393.
- Lewontin RC. 1972. The apportionment of human diversity. *Evol. Bio.* 6, 381-398.
- Loveless MD and JL Hamrick. 1984. Ecological determinants of genetic structure in plant populations. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 15, 65-95.
- Malik SK, R Chaudhury, OP Dhariwal and RK Kalia. 2006. Collection and characterisation of *Citrus indica* Tanaka and *C. macroptera* Montr.: wild endangered species of north eastern India. *Gen. Res. and Crop evolution* 53, 1485-1493.
- Murwaski DA dan KS Bawa. 1994. Genetic structure and mating system of *Stemonoporus oblongifolius* (Dipterocarpaceae) in Sri Lanka. *American Journal of Botany* 81: 155-160.
- McDermott JM and BA McDonald. 1993. Gene flow in plant pathosystems. *Ann. Rev. Phytopathol.* 31, 353-373.
- Nei M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89, 583-590.

- Nei M. 1973.** Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proc Acad Nat Sci USA* **70**, 3321-3323.
- Pither R, JS Shore and M Kellman. 2003.** Genetic diversity of the tropical tree *Terminalia amazonia* (Combretaceae) in naturally fragmented populations. *Heredity* **91**(3), 307-313.
- Poerba YS, A Wawo dan KS Vulita. 2007.** Keragaman Fenotipe RAPD *Santalum album* L. di Pulau Timor bagian timur. *Berita Biologi* **8**(6), 537- 546.
- Rath P, G Rajaseger, C J Goh and P Kumar. 1998.** Phylogenetic analysis of Dipterocarps using Random Amplified Polymorphic DNA markers. *Annals of Botany* **82**, 61-65.
- Shaaban EA., S Abd-El-Aal SKH, NS Zaied and AA Rizkalla. 2006.** Assessment of genetic variability on some orange accessions using RAPD DNA markers. *Res J. of Agriculture and Biological Sciences* **2**(6), 564-570.
- Siregar IZ, T Yunanto dan P Pamoengkas. 2008.** Implikasi genetic metode pembiakan tanaman *Shorea johorensis* Foxw. Pada sistem silvikultur tebang pilih tanam jalur (TPTJ). *Biodiversitas* **9**(4), 250-254
- Tingey SV, JA Rafalski and MK Hanafey. 1994.** Genetic analysis with RAPD markers. *Dalam: Plant Molecular Biology*. C Coruzzi, and P Puidormenech (Eds.) Belin: Springer-Verlag.
- Wickneswari R, J Zawawi, SL Lee and M Norwati. 1994.** Genetic diversity of remnant and planted populations of *Hopea odorata* Roxb. In Peninsular Malaysia. Proceeding International Workshop, BIOREFOR, Kangar, Malaysia.
- Williams JG, AR Kubelik, KJ Livak, JA Rafalsky and SV Tingev. 1990.** DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucl. Acid Res.* **18**(22), 6531-6535.
- Yeh FC, RC Yang, TBJ. Boyle, ZH Ye, JX Mao 1997.** *POPGENE (version 1.31), the user-friendly shareware for population genetic analysis*. Molecular Biology and Biotechnology centre, University of Alberta, Edmonton. Alberta, Canada. Available free at <http://www.ualberta.ca/~fyeh>.