

Keragaman Genetika Ramin [*Gonystylus bancanus* (Miq.) Kurz] dari Provinsi Riau Berdasarkan Profil Random Amplified Polymorphic DNA

Yulita Kusumadewi, Yuyu S. Poerba, & Tukirin Partomihardjo

Laboratorium Genetika Tumbuhan, Pusat Penelitian Biologi,
Cibinong Science Centre Jl. Raya Bogor Km. 46 Bogor 16911
Email: yulita.kusumadewi@gmail.com

ABSTRACT

Genetic Diversity of Ramin [*Gonystylus bancanus* (Miq.) Kurz] from Riau Province Based on Random Amplified Polymorphic DNA Fingerprint. *Gonystylus bancanus* is a commercial timber found only on peat swamp forests, scatteredly distributed in Sumatra and Kalimantan. Their existence is now under severe threat due to habitat conversion. One of the remaining natural populations of ramin was in Riau Province, Sumatra. This study aimed to assess genetic diversity of this species within their natural populations in Riau Province using Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD). RAPD profiles were obtained by performing PCR amplification using five arbitrary primers. One hundred and eleven putative loci of RAPD were scored and analysed using Popgene and NTSYS software. Eleven of RAPD bands were commonly found in all populations and 16 bands were distinctively found in certain populations. These unique bands may serve as population diagnostic marker for such populations. The average genetic diversity within population (0.1606) was lower than that of among populations (0.1894). Genetic differentiation (G_{st}) indicated that 95.56% of total genetic diversity in ramin was attributed to the differences among populations. The highest genetic diversity was found in population 3 (H_e :0.1858) and 3 (I :0.2864), while the lowest genetic variation was observed in population 1 (H_e : 0.1438) and 2 (I : 0.2201). Total genetic diversity for all population (H_t) was 0.1982 with an average value of genetic diversity within populations (H_s) was 0.1606. The low level of genetic diversity found in ramin with high population differentiation may suggest that these remaining populations was undergoing genetic bottleneck resulted from severe habitat fragmentation.

Keywords: genetic diversity, populations, ramin, *Gonystylus bancanus*, RAPD.

PENDAHULUAN

Ramin (*Gonystylus bancanus*, Thymelaeaceae) merupakan salah satu jenis tumbuhan kayu komersial yang menjadi primadona dalam dunia perdagangan kayu. Negara penghasil kayu ramin yang potensial saat ini hanya

Malaysia dan Indonesia. Kayu ramin diperdagangkan dalam berbagai produk seperti papan interior, komponen perabotan, pigura, lantai, pasak kayu dan mainan anak-anak. Jenis-jenis ramin ini hanya tumbuh di hutan gambut dan tersebar secara mengelompok di Sumatra dan Kalimantan (Jayusman 2007). Salah

satu populasi alam ramina yang masih tersisa adalah di area hutan konsesi Provinsi Riau, Sumatra.

Seperti halnya dengan jenis-jenis kayu komersial lainnya, jenis ini banyak dieksploitasi untuk diambil kayunya sehingga keberadaannya terancam punah. Hal ini diperburuk dengan kenyataan bahwa ramina memiliki siklus regenerasi yang sangat sulit dan lambat, baik di habitat alaminya maupun di area percobaan. Kesulitan dalam mengembangkan ramina melalui kultur jaringan juga dialami oleh Laboratorium Kultur Jaringan di Bidang Botani Puslit Biologi-LIPI. Ramina dikategorikan sebagai jenis terancam dengan status rawan (VuA1cd IUCN 2008) dan dimasukkan dalam Appendix II CITES (2009).

Studi keragaman genetika dilakukan untuk mengetahui variasi genetika pada tingkat individu maupun populasi yang salah satunya untuk tujuan konservasi genetika, populasi maupun jenis. Studi ini telah dilakukan dengan menggunakan berbagai marka baik molekuler (Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD), Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP), Random Fragment Length Polymorphism (RFLP), Simple Sequence Repeats (SSRs) maupun protein (isozyme dan allozyme). Beberapa studi sudah dilakukan untuk memperkirakan keragaman genetika ramina, termasuk mengembangkan marka mikrosatelit untuk melacak asal usul lokasi ramina untuk mencegah perdagangan kayu ilegal (Smulders *et al.* 2007) dan pengembangan protokol ekstraksi kayu olahan ramina (Asif & Cannon 2005). Penelitian ini bertujuan

untuk mengetahui keragaman genetika antar individu dan populasi ramina di kawasan propinsi Riau dengan menggunakan marka RAPD.

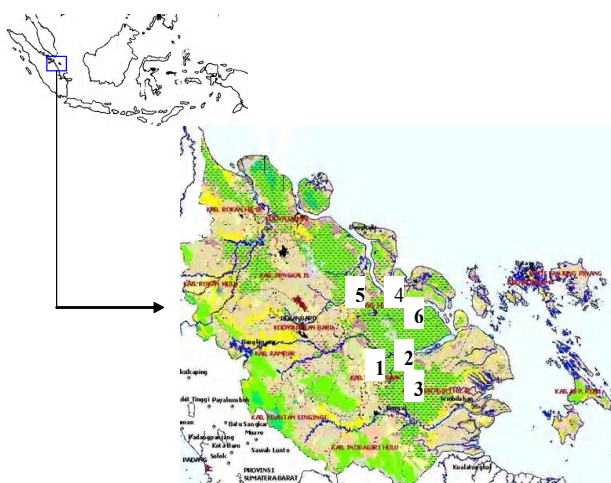
RAPD adalah marka molekuler yang telah banyak digunakan untuk identifikasi genotipe (Jimenez *et al.* 2002; Poerba *et al.* 2007) dan kultivar (Malik *et al.* 2006; Shabaan *et al.* 2006; Jain *et al.* 2007) serta memperkirakan keragaman genetika jenis-jenis pohon kayu tropis (Siregar *et al.* 2008; 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 penggunaan marka RAPD yaitu marka ini hanya mengamplifikasi alel dominan dan memiliki tingkat keberulangan yang rendah. Hal ini dapat diatasi antara lain dengan melakukan amplifikasi PCR lebih dari satu kali untuk memastikan konsistensi hasil yang diperoleh.

BAHAN DAN CARA KERJA

Sampel ramina yang dianalisis dalam studi ini sejumlah 28 (Tabel 1) yang berasal dari enam populasi alam di propinsi Riau (Gambar 1). Populasi 1, 2 and 3 berada di area konsesi PT Riau Andalan Pulp and Paper (RAPP), populasi 4 dan 6 berada di PT Ara Abadi, dan populasi 5 berada dalam konsesi PT Bina Daya Bintara. Sampel ini dikoleksi dalam bentuk daun yang dikeringkan dalam silika gel.

Tabel 1. Daftar sampel ramin dari setiap populasi.

No. populasi	No sampel	Jumlah sampel	Lokasi	Keterangan
1	1-4	4	Palawan	Pohon induk
2	5-7	3	Sungai Kutub Alam Lestari	Anakan
3	8-10, 26	4	Blok Palalawan, Palalawan, Blok Konservasi, Palalawan Batas Konservasi, Triomas Serapung	Anakan
4	11, 13-19	8	Serapung A, Palalawan Batas	Anakan
5	12, 20, 27-28	4	Blok Palalawan	Anakan
6	21-25	5	Serapung Tengah	Anakan



Gambar 1. Lokasi pengambilan sampel pada enam populasi ramin di propinsi Riau. 1) Palawan, 2) Sungai Kutub Alam Lestari, 3) Blok Palalawan, Palalawan, Blok Konservasi, Palalawan Batas Konservasi, Triomas Serapung, 4) Serapung A, Palalawan Batas, 5) Blok Palalawan, 6) Serapung Tengah.

Ekstraksi total DNA genom

Ekstraksi DNA dilakukan dengan mengikuti protokol Delaporta *et al.* (1983). Lima μ L total DNA dielektroforesis dalam 0.7% gel agarosa dalam larutan penyangga TEA(Tris-EDTA), kemudian diwarnai dengan ethidium bromida, lalu divisualisasi menggunakan lampu ultraviolet kemudian difoto dengan menggunakan *gel documentation system* untuk memastikan kuantitas dan kualitas DNA.

Analisis RAPD

Analisis RAPD yang dilakukan pada studi ini mengikuti protokol William *et al.* (1990) dengan menggunakan lima primer RAPD (Operon Technology Ltd) yang diseleksi dari 10 primer RAPD dari Operon Kit A, B, C, N, dan U. 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 secara

elektroforesis, lalu diwarnai dengan etidium bromida. Hasil pemisahan fragmen DNA dideteksi dengan menggunakan UV transluminator, kemudian difoto dengan menggunakan *gel documentation system*. Sebagai standar digunakan 100 bp plus DNA *marker* (Promega) untuk menetapkan ukuran pita hasil amplifikasi DNA.

Analisis data

Skor data

Setiap pita RAPD dianggap sebagai satu lokus putatif. Hanya lokus yang menunjukkan pita yang jelas yang disekor: ada (1) dan tidak ada (0). Matriks binari fenotip RAPD ini kemudian disusun untuk digunakan pada beberapa analisis.

Keragaman genetika

Parameter-parameter yang digunakan untuk mengkarakterisasi pola 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 & Clark 1989); 4) keragaman genetika yang diharapkan ($H/H_e = \text{expected heterozygosity}$ (Nei 1973) dan keragaman fenotipik berdasarkan Shannon's information index (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* ($G_{ST} = D_{st}/H_t$, Nei 1987); 3) *Gene flow* (Nm , Mc Dermott & McDonald 1993).

HASIL

Profil dan distribusi RAPD di populasi

Lima primer RAPD digunakan dalam penelitian ini dan diperoleh 111 fragmen DNA yang dihasilkan, berukuran dari 100 hingga 2800pb (pasang basa), yakni 99.11% diantaranya merupakan pita polimorfik (Tabel 2). Primer OPD-20 menghasilkan pita terbanyak (28) sedangkan primer OPU-12 menghasilkan pita tersedikit (17). Ada 11 pita umum yang dijumpai pada seluruh populasi, yang sebagian besar berasal dari primer OPD-20. Sementara itu ada 15 pita unik yang terdapat pada populasi tertentu yang umumnya dijumpai pada populasi 4 (Tabel 2).

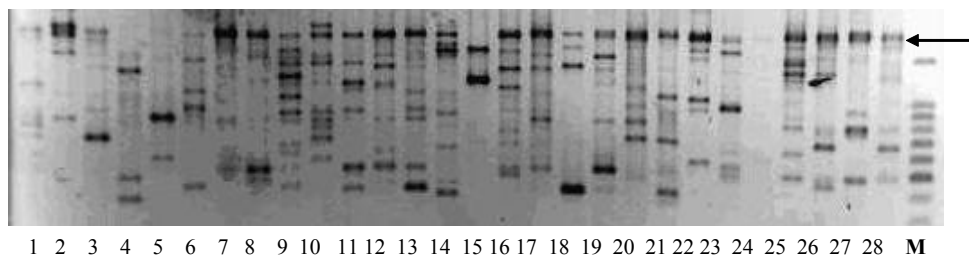
Keragaman genetika

Keragaman genetika tertinggi dijumpai pada populasi 3 dan 4 masing-masing berdasarkan parameter H_e (0,1858) dan I (0,2864). Keragaman genetika terendah dijumpai pada populasi 1 dan 2 masing-masing berdasarkan parameter H_e (0,1438) dan I (0,2201) (Tabel 3).

Nilai total keragaman genetika pada semua populasi (H_t) adalah $0.1982 \pm 0,0179$ dengan nilai rata-rata keragaman genetika dalam populasi (H_s) adalah $0,1606 \pm 0,0097$. Nilai keragaman genetika antar populasi (D_{st}) adalah

Tabel 2. Sebaran pita polimorfik RAPD pada enam populasi ramin di propinsi Riau.

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
		19 (100-1600 pb)	100 350	1300	500	1500	450	950	1600
OPB-15	GGAGGGTGT	22 (300-1600 pb)	650 700 900	-	-	-	450 750	-	400
OPC-16	CACACTCCAG	28 (300-1800 pb)	800 850 1400 1800	-	750	-	-	-	-
OPD-20	ACCCGGTCAC	25 (400-1800 pb)	1800	-	-	-	-	-	-
OPN-14	TCGTGCGGGT	17 (300-1200 pb)	650	1500	450	-	650	400	350
OPU-12	TCACCAGCCA								
Jumlah		111	11	2	3	1	4	2	3



Gambar 2. Salah satu profil RAPD yang dihasilkan dari primer OPN-14 menunjukkan pita-pita DNA polimorfik. M: DNA marker. Angka 1-28: nomor sampel. Anak panah menunjukkan pita umum ukuran 1800 pb.

Tabel 3. Keragaman genetica setiap populasi ramin.

Populasi	Jumlah sampel	Jumlah lokus polimorfik	PLP (%)	<i>na</i>	<i>ne</i>	<i>He</i>	<i>I</i>
1	4	50	44,64	1,4464	1,2334	0,1438	0,2214
2	3	44	39,29	1,3929	1,2525	0,1480	0,2201
3	4	62	55,36	1,5536	1,3013	0,1859	0,2838
4	8	80	71,43	1,7143	1,2679	0,1769	0,2864
5	4	55	49,11	1,4911	1,2541	0,1574	0,2427
6	5	61	54,46	1,5446	1,2353	0,1520	0,2415

0,1894, jauh lebih rendah *Ht* dan *Hs*. Differensiasi genetika (*Gst*) yang ada antar populasi adalah 95.56% dan gene flow (*Nm*) yang terjadi antar populasi 2,1393 (Tabel 4). Sedangkan nilai *Gst* untuk individual marka RAPD berkisar antara 0.0045 (OPB15-18)- 0.3097 (OPD20-23).

Jarak genetika dan analisis kluster

Jarak genetika tertinggi (0.0491) tercatat antara populasi 2 dan 5, sedangkan jarak genetik terendah (0.0181) tercatat antara populasi 1 dan 2 (Tabel 5).

Dendrogram UPGMA (Gambar 3) menyajikan gambaran kesamaan genetika keenam populasi berdasarkan matriks jarak genetika Nei (1978) (Tabel 5). Populasi 3 dan 4 serta 1 dan 2 memiliki kesamaan yang terbanyak, sesuai dengan jarak genetik yang cukup kecil (Tabel 5) sehingga membentuk dua kelompok di terminal cabang dendrogram. Berikutnya populasi 6 yang terdekat dengan kedua kelompok ini dan

populasi 5 terletak di dasar dendrogram.

PEMBAHASAN

Profil dan distribusi RAPD di populasi

Jumlah pita yang dihasilkan setelah amplifikasi DNA dengan PCR sangat bergantung pada bagaimana primer mengenal urutan DNA komplementernya pada cetakan DNA (*DNA template*) yang digunakan (Tingey *et al.* 1994). Polimorfisme pita-pita RAPD yang dihasilkan dari penelitian ini sangat tinggi (99,11% polimorfik). Duplikasi reaksi PCR juga menghasilkan keberulangan yang memuaskan sehingga hal ini menunjukkan bahwa primer yang diseleksi menghasilkan profil RAPD yang cukup konsisten.

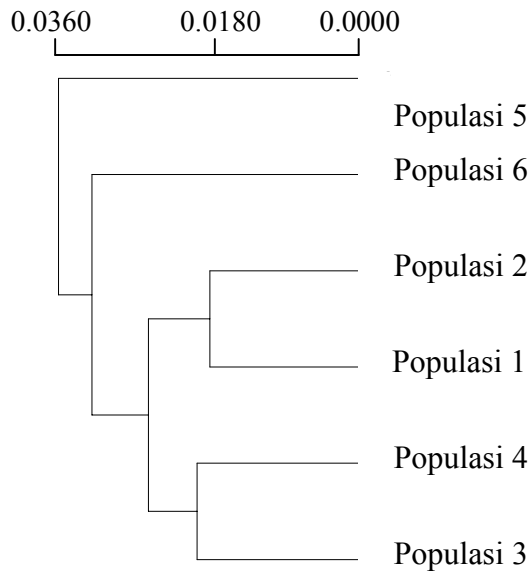
Variasi genetika yang ditemui pada penelitian ini berdasarkan perbedaan pola pita RAPD yang dijumpai pada individu ramin. Secara umum, 111 pita RAPD ini menyebar rata di seluruh individu ramin. Namun ada pita-pita tertentu

Tabel 4. Nilai H_t , H_s , D_{st} , G_{ST} dan Nm

	<i>Ht</i>	<i>Hs</i>	<i>Gst</i>	<i>Dst</i>	<i>Nm</i>
Rerata	0,1982± 0,0179	0,1606± 0,0097	0,9956	0,1894	2,1393

Tabel 5. Jarak genetika antar populasi ramin berdasarkan *Nei's Unbiased Measures*.

	Populasi					
	1	2	3	4	5	6
1	****					
2	0,0181	****				
3	0,0251	0,0225	****			
4	0,0197	0,0331	0,0196	****		
5	0,0407	0,0491	0,0294	0,0253	****	
6	0,0235	0,0359	0,0366	0,0299	0,0319	****



Gambar 3. Dendrogram pengelompokkan enam populasi ramin berdasarkan jarak genetica Nei (1978).

yang dijumpai di seluruh individu dan pita unik yang hanya dijumpai di populasi tertentu atau bahkan di individu tertentu. Terdapatnya pita-pita tertentu yang hanya dijumpai pada populasi tertentu maka pita-pita unik tersebut berpotensi untuk dijadikan marka untuk identifikasi *provenance*. Namun demikian, untuk menjadikan RAPD sebagai marka diagnostik tingkat populasi masih perlu ditunjang studi lanjutan, karena jumlah sampel yang terdapat pada populasi 2 khususnya (3 individu) 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 ramin yang cukup kecil (~1 pohon/hektar) maka jumlah individu sampel yang didapatkan juga cukup kecil.

Keragaman genetica

Jumlah individu yang dicuplik untuk sampel bervariasi antara 3 hingga 8 (Tabel 3). Rendahnya jumlah sampel disebabkan oleh rendahnya densitas ramin. Hal ini kemungkinan disebabkan terjadinya fragmentasi habitat ramin yang cukup parah sehingga populasi-populasi ramin terpisah menjadi sub-populasi yang hanya berisi beberapa individu dalam jumlah kecil. Menurut hasil *crusing* PT Diamond Raya Timber, sejak tahun 1999 telah terjadi penurunan potensi pohon sebesar 80% dan saat ini ini densitas ramin di area tersebut adalah 0.7 pohon/hektar (Jayusman 2007).

Penurunan ukuran populasi dapat menyebabkan terisolasi populasi-populasi menjadi populasi kecil, seringkali hanya terdiri kurang dari 50 individu.

Rendahnya jumlah individu dalam setiap populasi dapat menjadi ancaman tersendiri bagi kelangsungan hidup ramin karena dapat menyebabkan terjadinya erosi genetik dan tingginya diferensiasi antar populasi. Hasil penelitian kami menunjukkan bahwa terdapat differensiasi genetik yang sangat tinggi (99,56%) diantara populasi ramin. Sementara itu, nilai total keragaman genetik populasi ramin (H_t : 0,1982) termasuk rendah dibanding jenis tumbuhan hutan tropis terancam lainnya, *Metasequoia glyptostroboides* (H : 0,318, Li *et. al.* 2005), tetapi lebih tinggi dibanding *Dipterocarpus littoralis* (H : 0,1958). Rendahnya nilai keragaman genetik dalam populasi ini tidak sesuai dengan kenyataan yang umumnya terjadi pada jenis-jenis tumbuhan menyerbuk silang. Ramin, seperti halnya jenis-jenis tumbuhan tropis lainnya adalah jenis tumbuhan dominan di hutan rawa gambut, *late successional* dan menyerbuk silang. Pada jenis-jenis menyerbuk silang seperti ini biasanya nilai keragaman genetik dalam populasi lebih tinggi daripada antar populasi (Loveless & Hamrick 1984; Hamrick & Godt 1989; Pither *et al.*, 2003). Sebaliknya, telah terjadi pada ramin yang diteliti. Rendahnya keragaman genetik ramin kemungkinan disebabkan oleh terjadinya *inbreeding* antar individu dalam populasi yang jumlahnya sedikit sehingga variasi genetik yang ada juga rendah atau bahkan *selfers* pada individu. Terjadinya *inbreeding* dan/atau *self fertilisation*, memang sulit untuk dibuktikan terutama pada ramin yang memiliki jangka hidup

panjang. Namun hal ini merupakan salah satu penjelasan yang bisa dipaparkan.

Ancaman lain bagi kelangsungan hidup ramin adalah rendahnya tingkat regenerasi. Dari informasi yang diperoleh di lapangan, tingkat predasi ramin oleh mamalia kecil (tupai) dan burung (rangkong) cukup tinggi. Masa berbuah ramin rata-rata setiap 3-5 tahun sekali yang seringkali merupakan panen raya. Tingginya predasi mengakibatkan berkurangnya jumlah biji yang dapat berkecambah menjadi semai. Kemampuan semai untuk berkembang juga sangat rendah karena berbagai faktor, antara lain serangan herbivor dan mati kekeringan, sehingga seringkali sulit menjumpai anakan ramin di habitat alaminya. Teknik budidaya ramin juga belum sepenuhnya dikuasai hingga saat ini. Sementara itu ramin merupakan jenis kayu favorit dalam dunia perdagangan kayu yang terus diminati. Seluruh kondisi ini cukup memprihatinkan, dan apabila dibiarkan berlanjut, dikhawatirkan ramin akan segera mengalami kepunahan.

Jarak genetik dan analisis kluster

Populasi 5 dan 6 tidak mengelompok bersama dengan populasi-populasi lain. Hal ini kemungkinan karena individu-individu ramin yang berada di kedua populasi ini memiliki alel yang paling berbeda yang tercermin dari profil RAPD mereka.

Tingginya jarak genetik antara populasi 2 dan 5 yang juga tercermin dari pola pengelompokan pada dendrogram, kemungkinan disebabkan oleh rendahnya jumlah individu yang tercuplik dimana kesemua individu dalam kedua populasi

ini juga memiliki alel yang sangat berbeda. Kedua populasi ini terletak pada dua hutan konsesi yang berbeda (Gambar 1) dalam jarak yang cukup jauh sehingga kemungkinan terjadinya percampuran materi genetik baik melalui pollen maupun pencaran biji antar kedua populasi ini juga sangat kecil.

Sedangkan mengelompoknya populasi 3 dan 4 –yang secara geografis jaraknya cukup jauh (Gambar 1)-kemungkinan disebabkan oleh dua hal. Yang pertama, adanya kesamaan profil RAPD yang dihasilkan dari amplifikasi PCR. RAPD menggunakan primer universal yang mengamplifikasi daerah genom DNA secara acak, sehingga pita-pita DNA yang dihasilkan juga bersifat acak. Kedua, terdapatnya kemungkinan bahwa beberapa individu pada kedua populasi berasal dari *provenance* yang sama- apabila terjadi introduksi pada kedua populasi tersebut. Namun hal yang kedua kemungkinan kecil terjadi, karena semua ramin yang berada dalam area konsesi ini merupakan hutan alam.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada PT Riau Andalan Pulp and Paper atas fasilitas dan ijin pengumpulan material di area konservasi kawasan HTI RAPP. Terima kasih juga kepada Sdri. Agustina dan Herlina yang telah memberi bantuan teknis terhadap penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Asif, M.J. & C.H. Cannon. 2005. DNA extraction from processes wood: a

case study for the identification of endangered timber species (*Gonystylus bancanus*). *Plant Mol. Biol. Reporter* 23: 185-192.

Convention on International trade in endangered species of wild flora and fauna. 2009. Appendices I, II and III. Valid from 22 May 2009. P. 40.

Delaporta, S.L., J. Wood, & J.B. Hicks. 1983. A plant DNA minipreparation. Version II. *Plant Mol. Biol. Reporter* 4:19–21.

Hamrick, J.L., & M.J.W. Godt, 1989. Allozyme diversity in plant species. Dalam: Brown, A.H.D., M.J. Clegg, A.L. Kahler, & B.S. Weir (eds.). *Plant population genetics, breeding and genetic resources*. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.

Hartl, D.L. & A.G. 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/>

Jayusman. 2007. Degradasi sumberdaya genetik jenis ramin dan upaya penyelamatannya. *Apforgen newsletter* 4:1-4.

Jain, P.K., L. Saini, M.H. Pathak & V.K. Gupta. 2007. Analysis of genetic variation in different banana (*Musa species*) variety using random amplified polymorphic

- DNAs (RAPDs). *African J. Biotech.* 6 (17): 1987-1989.
- Jiminez, J.F., P. Sanchez-Gomez, J. Guemes, O. Werner & J.A. Rossello. 2002. Genetic variability in a narrow endemic snapdragon (*Antirrhinum subaeticum*, Schrophulariaceae) using RAPD markers. *Heredity* 89(5): 387-393.
- Lewontin, R.C. 1972. The apportionment of human diversity. *J. Evol. Biol.* 6: 381-398.
- Li, Y.Y., X.Y. Chen, X. Zhang, T.Y. Wu, H.P. Lu, & Y.W. Chai. 2005. Genetic differences between wild and artificial populations of *Metasequoia glyptostroboides* Hu et Cheng (Taxodiaceae): Implication for species recovery. *Conser. Biol.* 19: 224-231.
- Loveless, M.D. & J.L. Hamrick. 1984. Ecological determinants of genetic structure in plant populations. *Ann. Rev. Ecol. & Syst.* 15: 65-95.
- Malik, S.K., R. Chaudhury, O.P. Dhariwal & R.K. Kalia. 2006. Collection and characterisation of *Citrus indica* Tanaka and *C. macroptera* Montr.: wild endange-red species of north eastern India. *Gen. Res. & Crop Evol.* 53: 1485-1493.
- McDermott, J.M. & B.A. McDonald. 1993. Gene flow in plant pathosystems. *Ann. Rev. Phytopathology* 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. *Proceedings of the National Academy Sciences USA* 70: 3321-3323.
- Pither, R., J.S. Shore, & M. Kellman. 2003. Genetic diversity of the tropical tree *Terminalia amazonia* (Combretaceae) in naturally fragmented populations. *Heredity* 91(3): 307-313.
- Poerba, Y.S., A. Wawo, & K.S. Yulita. 2007. Keragaman Fenotipe RAPD *Santalum album* L. di Pulau Timor bagian timur. *Berita Biologi* 8(6): 537-546.
- Shaaban, E.A., S. Abd-El-Aal SKH., N.S. Zaied & A.A. Rizkalla. 2006. Assessment of genetic variability on some orange accessions using RAPD DNA markers. *Res. J. Agri. & Biol. Sci* 2(6): 564-570.
- Siregar, I.Z., T. Yunanto, & P. Pamoengkas. 2008. Implikasi genetik metode pembiakan tanaman *Shorea johorensis* Foxw. Pada sistem silvikultur terbang pilih tanam jalur (TPTJ). *Biodiversitas* 9(4): 250-254.
- Smulders, M.J.M., W.P.C. Van T Westende, B. Diway, G.D. Esselink, P.J. Van Dr Meer, & J.M. Koopman. 2007. Development of microsattellites markers in *Gonystylus bancanus* (Ramin) useful for tracing and tracking wood of this protected species. *Molecular Ecology Notes*. (Proof. read. version)
- Tingey, S.V., J.A. Rafalski, & M.K. Hanafey. 1994. Genetic analysis with RAPD markers: *In Plant*

Keragaman genetika Ramin [*Gonystylus bancanus* (Miq.) Kurz]

- Molecular Biology. C. Coruzzi & P. Puidormenech (Eds.) p.491-498.
- Williams, JG., AR. Kubelik, KJ. Livak, J.A. Rafalsky, & S.V. Tingev. 1990. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research* 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>.
- Yulita, KS & T. Partomihardjo. 2010. Keragaman genetika populasi pelahlar [*Dipterocarpus littoralis* (Bl.) Kurz] di Pulau Nusakambangan berdasara-rkan profil Enhanced Random Amplified Polymorphic DNA. *Berita Biologi (in press.)*

Memasukkan: Juni 2009

Diterima: Desember 2009