

Informasi Genetik Bitti (*Vitex cofassus*) di Areal Sumber Daya Genetik (ASDG) BPTH Wilayah II Sulawesi

Genetic Information of Bitti (Vitex cofassus) in Areal Genetic Resources Forest Plant Seedling Centre Region II, Sulawesi

Siti Halimah Larekeng^{*1}, Zulfadilah Syam¹, Musriati², Rathna Paelongan²,
Astuti Arif¹, Muhammad Restu¹, Iswanto¹

*) E-mail korespondensi: halimahbiotekfahatan@gmail.com

¹) Fakultas Kehutanan, Universitas Hasanuddin, Tamalanrea Unhas Campus Jl. Perintis Kemerdekaan Km. 10 Makassar South Sulawesi 90245 Indonesia

²) Balai Perbenihan Tanaman Hutan Wilayah II Sulawesi, Jl. Perintis Kemerdekaan No.KM. 17.5, Pai, Kec. Biringkanaya, Kota Makassar, Sulawesi Selatan 90242

ABSTRAK

Bitti (*Vitex cofassus*) merupakan salah satu jenis pohon terpenting di Sulawesi yang dimanfaatkan sebagai bahan pembuat perahu pinisi. Tujuan dari penelitian ini adalah mengevaluasi keragaman genetik Bitti pada Areal Sumber Daya Genetik (ASDG) di Kabupaten Bone. Penelitian ini menggunakan provenansi Bulukumba, Muna, Kolaka dan Luwu Utara yang dianalisis molekuler berdasarkan penanda mikrosatelit. Hasil penelitian menunjukkan provenansi Muna memiliki nilai H_o 0,65 atau nilai keragaman genetik yang tergolong tinggi dibandingkan provenansi Bulukumba, Kolaka, dan Luwu Utara.

Kata kunci: mikrosatelit; bitti; keragaman genetik.

ABSTRACT

Bitti (Vitex cofassus) is one of the most important tree species in Sulawesi, which is used as material for phinisi boats. The aim study was to study the genetic diversity of Bitti in the genetic resources area in Bone Regency. This study used provenance Bulukumba, Muna, Kolaka, and North Luwu proof which was analyzed based on microsatellite markers. The resulting study showed evidence that provenance Muna has a H_o value of 0,65 or a relatively high genetic diversity value in comparison to provenance Bulukumba, Kolaka, and North Luwu.

Keywords: microsatellite; bitti; genetic diversity.

I. PENDAHULUAN

Bitti (*Vitex cofassus*) merupakan salah satu jenis pohon terpenting dan telah dimanfaatkan oleh masyarakat Sulawesi Selatan sebagai bahan pembuat perahu pinisi. Jenis ini termasuk unggulan lokal Sulawesi Selatan sehingga mempunyai nilai ekonomi dan ekologi yang tinggi (Melpiany et al., 2020). Namun, penanaman bitti pada kondisi tempat tumbuh yang tidak sesuai dan kebanyakan tanaman menggunakan anakan alam atau cabutan dari bawah tegakan akan mempengaruhi kualitas tanaman. Kondisi ini menyebabkan penurunan kualitas dan potensi pada tanaman bitti (Gusmiaty et al., 2012).

Informasi mengenai kualitas suatu jenis tanaman dapat diketahui melalui informasi genetik. Keragaman genetik merupakan cerminan kemampuan adaptasi tanaman hutan, sehingga populasi keragaman genetik yang tinggi memiliki adaptasi yang tinggi pula (Hu et

al., 2021). Keragaman genetik yang tinggi dari suatu populasi dipengaruhi oleh beberapa faktor yakni mutasi dan aliran gen, sedangkan faktor yang menurunkan keragaman genetik adalah seleksi dan hanyutan genetik (Thomas et al., 2014).

Penilaian keragaman genetik tanaman dapat dilakukan dengan menggunakan penanda molekuler DNA, salah satu penanda tersebut yaitu Mikrosatelit. Penanda mikrosatelit dibuat berdasarkan jumlah sekuen DNA sederhana yang berulang-ulang sehingga sering disebut dengan Simple Sequence Repeat (SSR). SSR merupakan salah satu penanda DNA yang menggunakan prinsip kerja reaksi polimerisasi berantai dengan menggunakan mesin PCR (*Polymerase Chain Reaction*), yang dapat mengamplifikasi sekuen DNA tertentu secara in vitro (Larekeng et al., 2018; Larekeng et al., 2019).

Menurut (Arif et al., 2019) keragaman genetik adalah satu kunci dalam melakukan program pemuliaan tanaman salah satunya di jabon merah. Bitti yang merupakan endemik Sulawesi masih perlu dilakukan studi keragaman genetik di beberapa daerah Sulawesi untuk mendapatkan informasi yang komprehensif. Salah satu lokasi ASDG BPTH yang terbangun dan belum dievaluasi berada di kabupaten Bone, Sulawesi Selatan sehingga penelitian ini menjadi penting untuk dilakukan.

II. METODE PENELITIAN

1. Koleksi Materi Genetik

Lokasi penelitian untuk pengambilan materi genetik dilakukan di ASDG BPTH Kabupaten Bone, Sulawesi Selatan (Gambar 1). Penelitian analisis molekuler dilakukan di Laboratorium Bioteknologi dan Pemuliaan Pohon, Fakultas Kehutanan, Universitas Hasanuddin, dan Laboratorium Molekuler Balitsereal Kabupaten Maros.



Gambar 1. Peta Areal Sumber Daya Genetik BPTH Wilayah II Kabupaten Bone, Sulawesi Selatan.

2. Kegiatan Molekuler

Jumlah sampel materi genetik daun bitti yang digunakan sebanyak 97 sampel, dari 4 provenansi yaitu Bulukumba sebanyak 23 sampel, Muna sebanyak 24 sampel, Kolaka sebanyak 25 sampel, dan Luwu Utara sebanyak 25 sampel yang berada di ASDG BPTH Wilayah II Kab.Bone. Isolasi DNA daun bitti dilakukan dengan menggunakan metode *Cethyl Trimethyl Ammonium Bromide* (CTAB) dengan modifikasi (Syahri et al., 2020).

Seleksi primer dengan cara membuat beberapa reaksi PCR terhadap beberapa primer yang berbeda pada kondisi yang sama dan menggunakan sampel DNA yang sama, sehingga dapat diketahui kondisi optimum serta tingkat variasi pita yang dihasilkan dari setiap primer. Primer-primer yang dipilih digunakan untuk analisis keragaman genetik. Primer yang dipilih adalah primer yang bersifat polimorfik (Larekeng et al., 2019).

Seleksi primer dilakukan dengan menggunakan 10 primer SSR dari Jati (*Tectona grandis*) yang dikembangkan Verhaegen et al., (2010). Seleksi primer dilakukan dengan cara mengamplifikasi 12 DNA sampel yang diambil secara acak. Pada saat proses amplifikasi dilakukan gradient suhu $\pm 5^{\circ}\text{C}$ untuk mendapatkan suhu yang tepat. Primer-primer yang dipilih digunakan untuk analisis keragaman genetik. Primer yang dipilih adalah primer yang bersifat polimorfik, menghasilkan pita yang jelas. Primer-primer yang diseleksi pada DNA bitti hasil isolasi dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Nama primer, urutan sekuens, dan temperature melting dari DNA bitti.

No.	Nama Lokus	Urutan Sekuens (5'-3')	Tm (°C)
1	CIRAD1TeakF05 AJ968931	F: CTTCTGCAACCCTTTTTCAC R: AGCCATATCTTCCTTTCTCT	51,3
2	CIRAD4TeakH09 AJ968943	F: GCAAACCAACCTTACT R: CCGTTAGCACTCCATT	47,4
3	CIRAD2TeakC03 AJ968935	F: AGGTGGGATGTGGTTAGAAGC R: AAATGGTCATCAGTGTGTCAGAA	54,35
4	CIRAD1TeakH10 AJ968933	F: CGATACCTGCGATGCGAAGC R: CGTTGAATACCCGATGGAGA	56,5
5	CIRAD4TeakD12 AJ968941	F: CGCACACCAGTAGCAGTAGCC R: GCCGGAAAAAGAAAAACCAAA	56,45
6	CIRAD1TeakB03 AJ968930	F: AACAACCCCTCCTCTCTTCACTA R: CACTACCACTCATCATCAACACA	55,95
7	CIRAD3TeakA11 AJ968936	F: AAACCATGACAGAAACGAATC R: TTGGGAATGGGAGGAGAAGT	53,4
8	CIRAD3TeakE06 AJ968939	F: GCGTCAACCACTTCAACCACCAG R: CCTATTTTCTTCCCCTCCCTTCT	56,0
9	CIRAD3TeakB02 AJ968937	F: ATGAAGACAAGCCTGGTAGCC R: GGAAGACTGGGAATAACACG	56,2
10	CIRAD2TeakB07 AJ968934	F: GGGTGCTGATGATTGAGTT R: CTAAGGAGTGAGTGGAGTTT	52,6

Tm : *Temperature melting* (Temperatur leleh).

Hasil seleksi primer diperoleh primer-primer yang mampu mengamplifikasi DNA bitti. Amplifikasi DNA menggunakan satu kali reaksi PCR dengan 2 μl DNA working, 1,25 μl (F 0,625 μl dan R 0,625 μl), PCR mix 6,25 μl dan 3 μl ddH₂O untuk setiap reaksi.

Amplifikasi PCR menggunakan mesin PCR Sensoquest dan PCR kit kappa 2G dengan total reaksi 12,5 µl.

Amplifikasi PCR dilakukan dengan tahap yaitu: suhu 95°C selama 3 menit sebagai denaturasi awal. Kemudian diikuti 35 siklus, 95°C selama 30 detik sebagai denaturasi pertama, penempelan primer spesifik (suhu disesuaikan dengan masing-masing primer) selama 50 detik, pemanjangan primer pada suhu 72°C selama 60 detik, pemanjangan akhir 72°C selama 5 menit.

Proses elektroforesis menggunakan metode menggunakan SDS-PAGE. Cara kerja produk amplifikasi PCR dipisahkan menggunakan gel polyacrylamide menggunakan Buffer pada tegangan 100V selama 60 menit. Elektroforegram di visualisasi menggunakan UV transilluminator dan didokumentasikan menggunakan kamera digital.

3. Analisis Data

Hasil penelitian ini diperoleh berupa pita (*band*) yang muncul pada gel. Pita tersebut mempresentasikan alel yang terdapat pada lokus tertentu. Setiap primer yang digunakan mempresentasikan suatu lokus tertentu. Penilaian ada atau tidaknya pita dilakukan dengan mengamati foto elektroforegram secara manual. Setiap pita DNA yang terbentuk pada marka SSR menunjukkan posisi alel pada lokus. Satu pasang primer SSR mempresentasikan satu lokus tertentu (Mulsanti, 2011).

Data tersebut ditabulasi kemudian dianalisis dengan menggunakan perangkat lunak. Parameter keragaman genetik berupa alel yang terdeteksi, nilai heterosigositas harapan (H_e), Heterosigositas observasi (H_o), dan presentase keragaman genetik dihitung menggunakan GenAlex 6.5 software (Peakall & Smouse, 2012) menurut Persamaan 1.

$$H_o = \frac{\text{No.of Hets}}{N} \text{-----} (1)$$

No. Of Hets adalah jumlah individu heterosigot dalam suatu populasi, dan N adalah jumlah keseluruhan sampel. Sedangkan nilai H_e menggunakan Persamaan 2.

$$H_e^n = 1 - \sum p_i^2 \text{-----} (2)$$

Data tersebut ditabulasi kemudian dianalisis dengan software Darwin 6.5 untuk mengelompokkan individu menggunakan metode *Unweighted Pair-Group Methode Arithmetic* (UPGMA) . Pengelompokan ini disebut dengan analisis kluster. Hasil analisis kluster tersebut ditampilkan dalam bentuk dendrogram untuk menganalisis kekerabatan individu dalam suatu populasi (Widyatmoko et al., 2011).

Kemampuan lokus dalam membedakan genotip diukur berdasarkan nilai *Polymorphism Information Content* (PIC) (Hildebrand et al., 1992). Nilai ini dihitung dengan program online dengan Persamaan 3.

$$PIC_{i=1; i=1; i=1}^{n; n; n} = 1 - \sum p_i^2 - (\sum p_i^2)^2 + \sum p_i^4 \text{-----} (3)$$

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Seleksi Primer

Hasil seleksi 10 primer SSR tanaman jati menghasilkan 6 primer SSR yang teramplifikasi untuk Bitti, namun hanya tiga primer yang dapat digunakan untuk analisis keragaman genetik yaitu CIRAD1TeakF05, CIRAD4TeakD12, dan CIRAD3TeakA11.

Ketiga pasang primer ini menghasilkan pita yang jelas dan polimorfik. Primer yang digunakan untuk analisis lebih lanjut adalah primer yang menghasilkan pita jelas, terang, dan polimorfik, karena primer-primer tersebut mampu membedakan individu satu dengan yang lain, sedangkan primer yang menghasilkan pita monomorfik tidak dapat membedakan individu yang diuji (Larekeng *et al.*, 2018). Karakteristik primer yang digunakan untuk analisis keragaman genetik bitti dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil gradien suhu annealing (penempelan) pada primer yang telah diseleksi.

No	Primer	Annealing ($^{\circ}\text{C}$)
1.	CIRAD1TeakF05	51,3
2.	CIRAD4TeakD12	56,45
3.	CIRAD3TeakA11	53,4

Hasil gradien suhu annealing dari Tabel 2 menunjukkan bahwa 3 primer memiliki suhu yang berbeda-beda dan menghasilkan pita paling terang pada masing-masing primer dibandingkan dengan suhu lainnya. suhu annealing apabila terlalu rendah, primer akan menempel pada sisi lain dari DNA, akibatnya DNA yang terbentuk memiliki spesifitas yang rendah, sedangkan apabila terlalu tinggi, dapat menyebabkan gagalnya amplifikasi karena tidak terjadi penempelan primer, dan suhu annealing yang biasa digunakan berkisar 50-60 $^{\circ}\text{C}$.

Penelitian ini menggunakan primer yang dikembangkan dari tanaman jati, karena belum dikembangkan primer SSR dari tanaman bitti. Tanaman jati dan bitti berasal dari satu famili yang sama yaitu Verbenaceae, sehingga masih memungkinkan untuk menggunakan primer dari tanaman jati untuk mengamplifikasi DNA bitti.

Keberhasilan amplifikasi DNA menggunakan primer tertentu salah satunya berdasarkan kesamaan sequens antara genom dan primer. Seleksi primer pada setiap primer dapat berhasil dengan kedekatan genetik setiap jenis secara taksonomi yakni dengan lintas subgenus, genus, sub-famili dan famili (Gusmiaty *et al.*, 2012) (Larekeng *et al.*, 2019).

2. Keragaman Genetik

Parameter keragaman genetik berdasarkan jumlah alel yang terdeteksi nilai H_e , H_o , dan PIC. Adapun parameter tersebut di tunjukkan pada Tabel 3 dimana nilai H_e yang terdeteksi beragam, Primer CIRAD3TeakA11 memiliki nilai H_e yang tertinggi yaitu 0,50 pada Provenansi Muna, lalu nilai H_e rendah pada primer CIRAD1TeakF05 yaitu 0,49 pada provenansi Muna dan Kolaka, dan primer CIRAD3TeakD12 hanya 0,29 pada provenansi Luwu Utara. Menurut (Nurtjahtjaningsih *et al.*, 2013) menyatakan bahwa nilai keragaman genetik tinggi apabila nilai $H_e \geq 0,5$ dan keragaman genetik rendah apabila nilai $H_e < 0,5$.

Nilai H_o tertinggi terdeteksi pada primer CIRAD3TeakA11 yaitu 0,65 di provenansi Muna, nilai heterosigositas tersebut berkaitan dengan individu heterosigot yang terdapat dalam populasi. Adapun populasi yang tidak memiliki individu heterosigot dalam primer yang digunakan menunjukkan nilai H_o 0,00 terdapat pada primer CIRAD1TeakF05. Nilai rata-rata H_o yang didapatkan pada penelitian ini lebih rendah dibandingkan dengan nilai H_e .

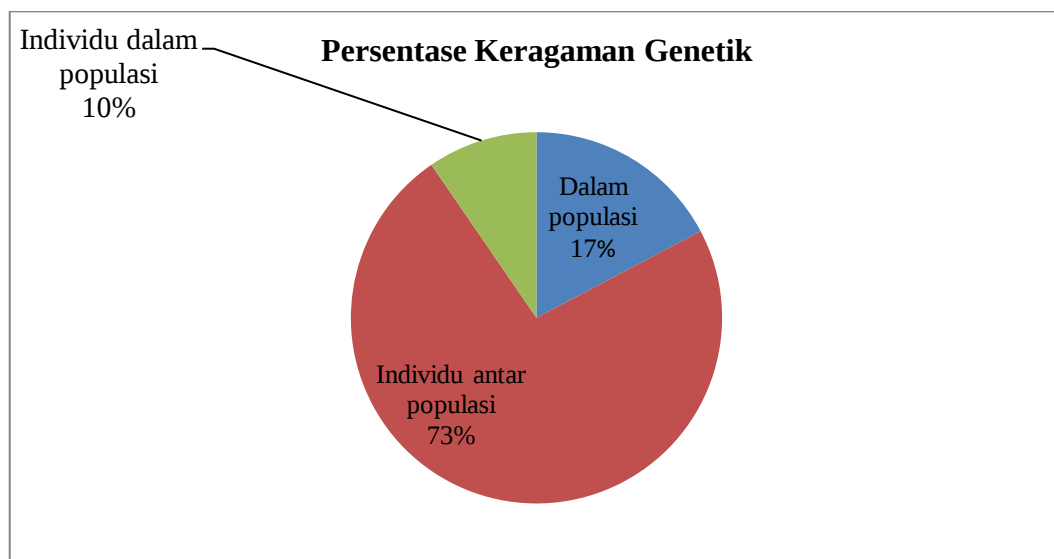
Nilai PIC pada Primer CIRAD1TeakF05 yaitu 0,50 di provenansi Luwu Utara. Hal ini mengindikasikan bahwa primer tersebut sangat informatif untuk menganalisis keragaman genetik bitti. Penetapan nilai informatif suatu primer merujuk pada (Botstein *et al.*, 1980)

yang menyatakan bahwa primer tergolong informatif hingga sangat informatif apabila nilai $PIC \geq 0.3$ (Gambar 2).

Tabel 3. Parameter yang mencirikan keragaman genetik bitti antar populasi.

No	Primer	Parameter	Provenansi				Rata-rata
			Bulukumba	Muna	Kolaka	Luwu Utara	
1	CIRAD1TeakF05	He	0,31	0,49	0,49	0,43	0,43
		Ho	0,11	0,12	0	0,04	0,07
		PIC	0,45	0,44	0,40	0,50	0,45
2	CIRAD3TeakD12	He	0,13	0,08	0,22	0,29	0,18
		Ho	0,04	0,06	0,06	0,04	0,05
		PIC	0,23	0,15	0,36	0,44	0,30
3	CIRADTeakA11	He	0,31	0,50	0,48	0	0,32
		Ho	0,15	0,65	0,58	0	0,35
		PIC	0,45	0,41	0,46	0	0,33

Keterangan: He (Nilai Heterosigositas Harapan), Ho (Nilai Heterosigsitas Observasi), PIC (Nilai Polymorphic Information Content).



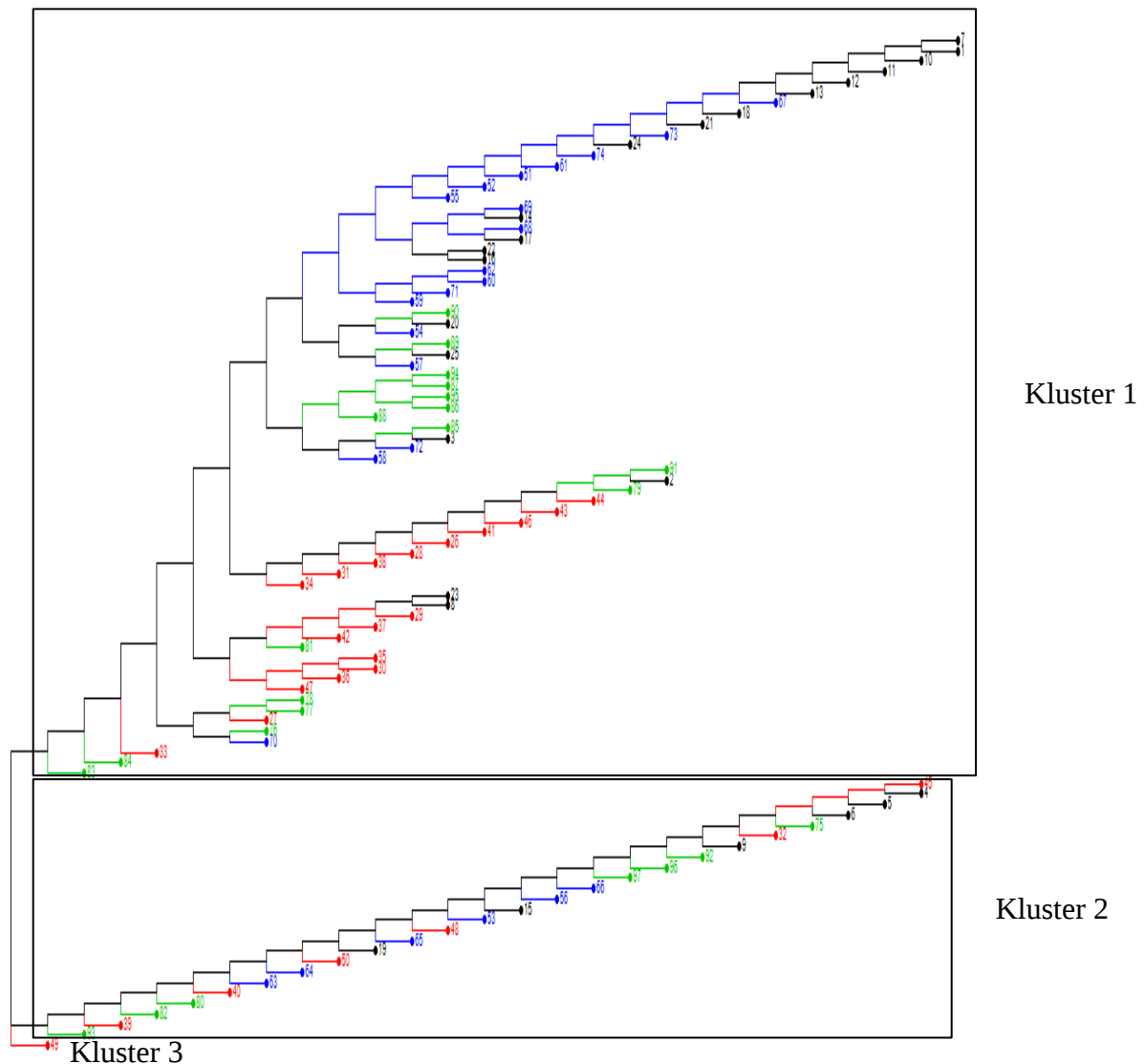
Gambar 2. Diagram *Analysis of Molecular Variance* (AMOVA) pada populasi bitti berdasarkan tiga primer SSR Jati.

Diagram AMOVA pada Gambar 2 menunjukkan keragaman antar individu pada keseluruhan sampel sebesar 73%. Keragaman genetik antar masing-masing individu dalam populasi 10% dan keragaman genetik antar populasi Bulukumba, Muna, Luwu utara, Kolaka sebesar 17%. Siregar (2010) menunjukkan bahwa sebagian besar variasi genetik tersimpan pada individu didalam populasi dibandingkan dengan variasi genetik antar populasi, sehingga sampel populasi yang dihasilkan memiliki genetik yang bervariasi.

3. Hubungan Kekerabatan Keseluruhan Individu pada Semua Provenansi

Data dari pembacaan pita DNA berdasarkan 3 primer diskoring dan disusun kedalam

bentuk data biner. Data biner kemudian dikonversi menjadi matriks jarak genetik, sehingga nilai 0,00 artinya memiliki kemiripan yang sama (Gambar 3).



Gambar 3. Dendrogram kekerabatan genetik empat provenansi Bitti menggunakan tiga primer mikrosatelit. Warna hitam menunjukkan provenansi Kolaka, merah dari Luwu Utara, biru dari Muna, dan hijau dari Bulukumba.

Gambar 3 menunjukkan dendrogram kekerabatan genetik 4 provenansi bitti menggunakan 3 primer mikrosatelit. Terdapat 97 sampel keseluruhan yang terbagi bagi atas kluster pada Gambar 3. Setiap kluster terdapat individu-individu dari masing-masing provenansi yang memiliki kekerabatan genetik yang dekat.

Kluster 1 dan 2 memiliki beberapa subkluster, setiap subkluster memiliki individu-individu yang berbeda provenansi, adapun di kluster 1 terdiri dari 71 individu, kluster 2 terdiri 25 individu, dan kluster 3 hanya terdiri satu individu. Kluster tersebut terdiri atas individu-individu dari masing masing provenans yang memiliki hubungan kekerabatan genetik yang sangat dekat. Menurut Nurtjahjaningsih *et al.*, (2013) bahwa pengklasteran

mengindikasikan bahwa dalam satu klaster memiliki stuktur genetik yang hampir sama, sehingga antara klaster yang satu dengan yang lainnya memiliki sturuktur genetik yang berbeda.

IV. KESIMPULAN

Keragaman genetik bitti dari 4 provenansi di lokasi ASDG BPTH II Sulawesi tergolong tinggi. Rekomendasi primer yang bisa digunakan di penelitian keragaman genetik di bitti pada provenan lainnya adalah Primer AJ968931, Primer AJ968941, dan Primer AJ968936.

V. UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Kemdikbud_Ristek DIKTI yang telah mendukung dan membiayai penelitian ini melalui Hibah Penelitian Dasar Unggulan PT UNHAS tahun 2021.

REFERENSI

- Arif, A., Larekeng, S. H., Restu, M., Cahyaningsih, Y. F., & Mukti, J. (2019). A Genetic Diversity on Jabon Merah (*Anthocephalus macrophyllus* Roxb.) from Three Different Provenances in South Sulawesi. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 270(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/270/1/012003>
- Botstein, D., White, R. L., Skolnick, M., & Davis, R. W. (1980). Construction of a Genetic Linkage Map in Man Using Restriction Fragment Length Polymorphism. *Am J Hum Gen*, 32, 314–331. [papers2://publication/uuid/0B80518E-A22B-41F3-BE43-171F51007E42](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/171F51007E42/)
- Gusmiaty, Restu, M., & Pongtuluran. (2012). Seleksi Primer Untuk Analisis Keragaman Genetik Jenis Bitti (*Vitex cofassus*). *Jurnal Perennial*, 8(1), 25–29.
- Hildebrand, C. E., Torney, D. C., & Wagner, R. P. (1992). Informativeness of Polymorphic DNA Markers. In *Mapping the Genome* (Vol. 20, pp. 100–102). *Los Alamos Science*. [https://doi.org/10.1016/S0923-1811\(98\)00020-6](https://doi.org/10.1016/S0923-1811(98)00020-6)
- Hu, Y., Fan, H., Chen, Y., Chang, J., Zhan, X., Wu, H., Zhang, B., Wang, M., Zhang, W., Yang, L., Hou, X., Shen, X., Pan, T., Wu, W., Li, J., Hu, H., & Wei, F. (2021). Spatial patterns and conservation of genetic and phylogenetic diversity of wildlife in China. *Science Advances*, 7(4). <https://doi.org/10.1126/sciadv.abd5725>
- Larekeng, S. H., Purwito, A., Mattjik, N. A., & Sudarsono, S. (2018). Microsatellite and SNAP markers used for evaluating pollen dispersal on Pati tall coconuts and Xenia effect on the production of “Kopyor” fruits. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/157/1/012042>
- Larekeng, S.H, Dermawan, R., Iswoyo, H., & Mustari, K. (2019). RAPD primer screening for amplification on Katokkon pepper from Toraja, South Sulawesi, Indonesia. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 270, 012023. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/270/1/012023>

- Larekeng, Siti Halimah, Restu, M., Millang, S., & Bachtiar, B. (2018). Moderate Level of Genetic Diversity in *Anthocephalus Macrophyllus* Roxb, an Endemic Tree of Sulawesi and Its Implication in Conservation. *International Journal of Agriculture System*, 6. <https://doi.org/10.20956/ijas.v6i1.1449>
- Larekeng, Siti Halimah, Restu, M., Susilowati, A., & Rachmat, H. H. (2019). Genetic diversity of parental and offspring population in ebony (*Diospyros celebica* bach) revealed by Microsatellites marker. *International Journal on Emerging Technologies*, 10(2), 178–185.
- Melpiany, Bachtiar, B., Paembonan, S. A., & Larekeng, S. H. (2020). The effect of betel leaves as the soak solution for Bitti (*Vitex cofassus*) seeds germination. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 575(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/575/1/012023>
- Mulsanti, I. W. (2011). Identifikasi dan Evaluasi Kemurnian Genetik Benih Padi Hibrida Menggunakan Marka Mikrosatelit (Tesis).
- Nurtjahjaningsih, I., YPBC Widyatmoko, A., & Rimbawanto, A. (2013). Karakterisasi Dan Aplikasi Penanda Mikrosatelit Pada Beberapa Species Eucalyptus. *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan*, 7(2), 107–118. <https://doi.org/10.20886/jpth.2013.7.2.107-118>
- Peakall, R., & Smouse, P. E. (2012). GenALEX 6.5: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. *Bioinformatics*, 28(19), 2537–2539. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts460>
- Syahri, Y. F., Larekeng, S. H., & Susilowati, A. (2020). Assessment of Population Genetic Diversity of cocoa (*Theobroma cacao* L.) using RAPD markers: The Case of Agroforestry's System in East Kolaka, Indonesia. *International Journal on Emerging Technologies*, 11(2), 887–891.
- Thomas, E., Jalonen, R., Loo, J., Boshier, D., Gallo, L., Cavers, S., Bord??cs, S., Smith, P., & Bozzano, M. (2014). Genetic considerations in ecosystem restoration using native tree species. *Forest Ecology and Management*, 333, 66–75. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2014.07.015>
- Verhaegen, D., Fofana, I. J., Logossa, Z. A., & Ofori, D. (2010). What is the genetic origin of teak (*Tectona grandis* L.) introduced in Africa and in Indonesia? *Tree Genetics and Genomes*, 6(5), 717–733. <https://doi.org/10.1007/s11295-010-0286-x>
- Widyatmoko, A., Nurtjahjaningsih, I., & Prastyono. (2011). Study on the Level of Genetic Diversity of *Diospyros celebica* , *Eusideroxylon zwageri* And *Michelia* spp . Using RAPD Markers (Issue 2).