



SIDIK JARI DNA PLASMA NUTFAH KELAPA SAWIT KOLEKSI PUSAT PENELITIAN KELAPA SAWIT

Sri Wening, Rokhana Faizah, Hernawan Yuli Rahmadi, Yurna Yenni, dan A Razak Purba

Abstrak Analisis sidik jari DNA dapat digunakan sebagai sarana untuk menunjang program pemuliaan kelapa sawit. Pada penelitian ini, dilakukan analisis sidik jari DNA pada koleksi plasma nutfah kelapa sawit milik Pusat Penelitian Kelapa Sawit (PPKS), untuk memperoleh informasi keragaman dan kekerabatan genetik dengan menggunakan marka *Simple Sequence Repeat* (SSR) yang telah terpetakan. Hasil menunjukkan bahwa terdapat keragaman koleksi plasma nutfah kelapa sawit dan hubungan kekerabatan antar populasi yang ada. Diketahui juga bahwa aksesi kelapa sawit liar dari Kamerun dan Angola memiliki keragaman genetik yang lebih tinggi dibandingkan dengan populasi koleksi plasma nutfah yang telah ada sebelumnya dan memiliki jarak genetik tersebar ke populasi sumber tetua dura dan populasi sumber tetua pisifera pada program *Reciprocal Recurrent Selection* (RRS). Populasi sumber tetua pisifera tersebut memiliki keragaman genetik yang lebih tinggi daripada populasi sumber tetua dura.

Kata kunci: sidik jari DNA, SSR, plasma nutfah, keragaman genetik, kekerabatan genetik, kelapa sawit

Abstract *DNA fingerprinting can be used to support oil palm breeding programme. This research was aimed to develop DNA fingerprinting of oil palm germplasm collection of Indonesian Oil Palm Research Institute (IOPRI) to understand their genetic variability and relationships, by using mapped Simple Sequence Repeat (SSR). Results showed the variability of the oil palm germplasm collection and relationship of*

populations. It was also understood that wild collections which were introduced from Cameroon and Angola had higher genetic diversity compared to other germplasm collections, spreading in dura parental source population and pisifera parental source population of Reciprocal Recurrent Selection (RRS) programme. The pisifera parental source population had higher genetic diversity compared to the dura parental source population.

Key words: *DNA fingerprinting, SSR, germplasm, genetic diversity, genetic relationship, oil palm.*

PENDAHULUAN

Ketersediaan plasma nutfah yang memiliki keragaman genetik yang luas merupakan hal penting dalam kegiatan pemuliaan kelapa sawit, karena akan memperbesar peluang pembentukan material baru dengan susunan genetik yang diinginkan. Usaha pemeliharaan plasma nutfah yang memiliki banyak koleksi merupakan hal yang kompleks, karena berhubungan dengan biaya penanaman dan perawatan yang tinggi. Hal ini diatasi dengan pengelolaan plasma nutfah yang efisien, dengan mengoptimalkan jumlah keragaman genetik koleksi, serta mempertimbangkan aspek kemampuan ekonomi dalam pengelolaan plasma nutfah. Pengelolaan plasma nutfah yang efisien tersebut memerlukan informasi karakter genetik plasma nutfah yang ada, untuk kemudian dihubungkan dengan tujuan-tujuan program pemuliaan sehingga koleksi plasma nutfah dapat dipelihara dan dimanfaatkan secara berkesinambungan (Hou et al., 2012; Keller et al., 2013; Krishnan et al., 2013). Pengelolaan plasma nutfah yang kompleks tersebut dapat dibantu oleh marka DNA, yang memiliki perbedaan dengan marka morfologi, di antaranya tidak terpengaruh oleh lingkungan, tahap pertumbuhan atau bagian jaringan

Penulis yang tidak disertai dengan catatan kaki instansi adalah peneliti pada Pusat Penelitian Kelapa Sawit

Sri Wening (✉)
Pusat Penelitian Kelapa Sawit
Jl. Brigjen Katamsa No. 51 Medan, Indonesia
Email: sriwening.sw@gmail.com



tanaman. Koleksi plasma nutfah yang terkarakterisasi secara genetik, akan memudahkan proses dalam usaha pencarian alel atau sifat, hubungan antara marka DNA dengan sifat, pemetaan genetik dan klon gen (Boza *et al.*, 2013).

Salah satu marka DNA, yaitu *Simple Sequence Repeat* (SSR), memiliki beberapa kelebihan jika dibandingkan dengan marka DNA yang lain, yaitu mudah diaplikasikan, tinggi tingkat polimorfismenya, bersifat kodominan dan *reliable* (Aranzana *et al.*, 2003; Koelling *et al.*, 2012; Mayer dan Kerth, 2005; Ottewell *et al.*, 2005; Rakoczy-Trojanowska dan Bolibok, 2004; Teulat *et al.*, 2000). Hal ini menyebabkan teknik tersebut sering digunakan dalam sistem sidik jari DNA. SSR telah digunakan untuk sidik jari DNA pada beberapa spesies tanaman seperti *Phaseolus vulgaris* L. (Blair *et al.*, 2006; Negri dan Tiranti, 2010), *Cynoglossum officinale* L. (Ensslin *et al.*, 2011), *Eucalyptus grandis* (Kirst *et al.*, 2005), *Saccharum* sp. (Perera *et al.*, 2012), *Oryza sativa* (Garris *et al.*, 2005), *Cicer arietinum* L. (Zaccardelli *et al.*, 2012), dan termasuk kelapa sawit, baik spesies *Elaeis guineensis* Jacq. (Abdullah *et al.*, 2008; Ajambang *et al.*, 2012;

Cochard *et al.*, 2009; Wening *et al.*, 2012), maupun *Elaeis oleifera* (Billotte *et al.*, 2001).

Pusat Penelitian Kelapa Sawit memiliki koleksi plasma nutfah kelapa sawit yang cukup lengkap di Indonesia. Hal ini merupakan modal dasar perakitan bahan tanaman kelapa sawit unggul yang berkesinambungan dalam usaha pemenuhan permintaan pasar. Namun demikian, terdapat dugaan bahwa sebagian besar material komersial yang dimiliki PPKS memiliki keragaman genetik yang sempit, karena sejarah keturunan dan proses seleksi yang berulang yang telah dilakukan untuk mendapatkan material komersial tersebut. Untuk menambah keragaman genetik koleksi plasma nutfah PPKS yang akan memperbesar peluang introgresi sifat baru ke material komersial PPKS, telah dilakukan upaya introduksi material kelapa sawit liar dari Kamerun dan Angola. Sidik jari DNA akan membantu dalam pendugaan keragaman genetik koleksi plasma nutfah kelapa sawit PPKS yang telah ada dan material koleksi baru, untuk menunjang pengelolaan koleksi plasma nutfah PPKS dan menentukan persilangan yang diperlukan dalam pelaksanaan pemuliaan kelapa sawit di PPKS.

Tabel 1. Nilai dan definisi pendapat kualitatif perbandingan.

Nomor	Populasi asal	Keterangan
1-4	Dosin 533	Populasi sumber tetua dura
5	Dosin x Marihat	
6-9	Tinjowan	
10-13	Marihat x Gunung Bayu	
14	Dabou	
15-19	Dumpy Aek Pancur	Populasi sumber tetua pisifera
20-27	AVROS	
28-31	Yangambi	
32-35	Ivory Coast	
36-37	Dosin	
38-40	Marihat	Populasi komersial, hasil persilangan tetua dura dan pisifera
41-42	Bah Jambi	
43-50	Komersial DP	
51-61	Kamerun	
62-71	Angola	
72-74	<i>Elaeis oleifera</i>	-

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan adalah tujuh puluh empat (74) tanaman kelapa sawit dengan rincian tujuh puluh satu diantaranya adalah spesies *Elaeis guineensis* Jacq. dan tiga lainnya adalah kelapa sawit spesies *E. oleifera* yang berasal dari Suriname (2 sampel) dan Brazil (1 sampel). DNA diekstraksi dari 50 mg jaringan daun segar yang muda dan sehat, dengan menggunakan Qiagen DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen).

Metode

Enam belas primer SSR (dengan motif (GA)₁₃ hingga (GA)₂₀) yang telah dipetakan, yang merupakan perwakilan tiap kromosom kelapa sawit (Billotte *et al.*, 2005) digunakan untuk melakukan karakterisasi genetik tanaman yang dianalisis. Amplifikasi SSR mengacu pada protokol yang telah diuraikan oleh Wening dan Yenni (2013). Hasil amplifikasi beberapa primer dapat digabung menjadi satu contoh analisis fragmen, jika primer-primer tersebut memiliki panjang hasil amplifikasi atau jenis label fluoresen yang berbeda. Fragmen DNA hasil amplifikasi dianalisis menggunakan *capillary sequencer*, menggunakan jasa komersial yang disediakan oleh 1st BASE (Malaysia). Alel-alel SSR dibaca menggunakan bantuan *software* GeneMarker[®] version 1.97 (SoftGenetics LLC[®]) (*demo version*), untuk kemudian digunakan sebagai data dalam analisis.

Analisis Data

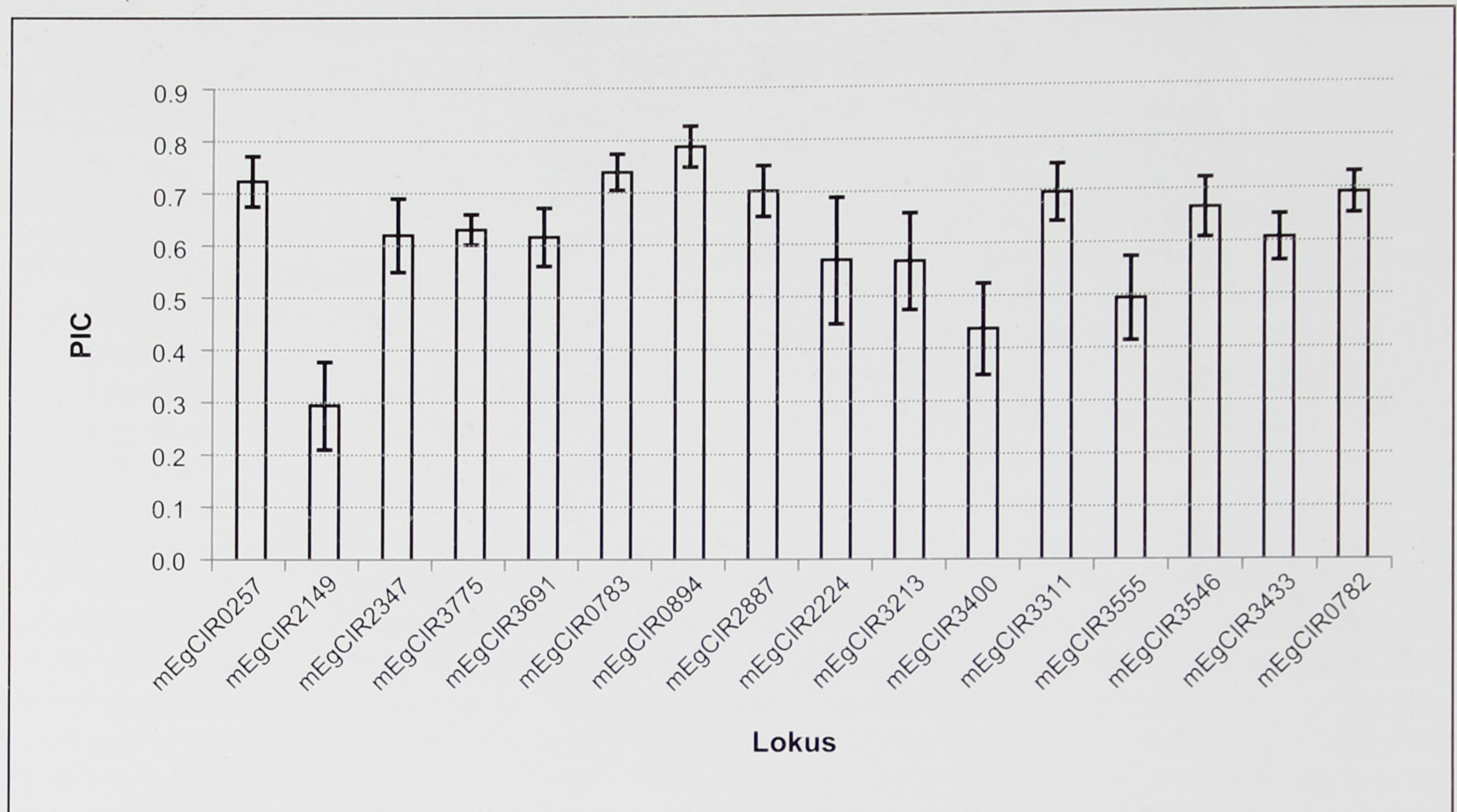
Parameter keragaman genetik diperoleh dari hasil analisis profil SSR: *Polymorphic Information Content* (PIC) (Anderson *et al.*, 1993), jumlah alel, jumlah alel dengan frekuensi $\geq 5\%$, jumlah alel khusus per lokus dan parameter heterozigositas (*unbiased expected heterozygosity*) (Nei, 1978). Analisis dilakukan dengan bantuan *software* GenAlEx version 6.4 (Peakall dan Smouse, 2006). Dendogram dengan metode *Unweighted Pair Group with Arithmetic mean* (UPGMA) dikonstruksi dengan bantuan *software* GenAlEx version 6.4 (Peakall dan Smouse, 2006) dan MEGA 4.0.2. (Tamura *et al.*, 2007).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada pengembangan sidik jari DNA, digunakan 16 marka SSR yang telah dipetakan, dengan satu marka mewakili tiap kromosom kelapa sawit yang berbeda. Penggunaan marka yang telah dipetakan dimaksudkan agar dapat diketahui informasi genetik di daerah genom kelapa sawit yang berbeda. Jika digunakan marka yang tidak dipetakan, maka keragaman genetik tidak akan dapat dihubungkan dengan daerah genom tertentu (Brantestam *et al.*, 2004). Penggunaan marka SSR yang memiliki motif yang sama (GA) dengan jumlah ulangan yang berkisaran sempit (13 hingga 20) dimaksudkan agar informasi keragaman genetik yang diperoleh antar-lokus yang berbeda hanya disebabkan oleh perbedaan evolusi antar-individu atau populasi yang dianalisis, dan bukan karena perbedaan tingkat mutasi marka SSR yang disebabkan oleh perbedaan motif dan ulangannya (Pardi *et al.*, 2005). Penggunaan marka SSR yang memiliki motif yang sama dengan jumlah ulangan yang berkisaran sempit untuk sidik jari DNA kelapa sawit pernah dilakukan oleh Wening *et al.* (2010).

Hasil analisis menunjukkan bahwa dari keenam belas lokus SSR yang digunakan untuk menganalisis sebagian besar aksesori (kecuali *E. oleifera*, karena data hilang pada lokus *mEgCIR0783*), lokus *mEgCIR0894* memiliki nilai PIC yang tertinggi ($0,787 \pm 0,041$) dan lokus *mEgCIR2149* memiliki nilai PIC yang terendah ($0,295 \pm 0,083$) (Gambar 1). Nilai PIC untuk semua lokus adalah $0,616 \pm 0,02$, lebih rendah dari sorghum, padi dan kelapa (berturut-turut adalah 0,645, 0,67 dan 0,66) (Garris *et al.*, 2005; Geleta *et al.*, 2006; Rajesh *et al.*, 2008) tetapi lebih tinggi dari PIC kacang tanah (0,46) (Cuc *et al.*, 2008). Nilai PIC yang diperoleh menunjukkan keragaman tiap lokus pada aksesori. Nilai PIC tersebut juga dapat menunjukkan kemampuan tiap marka SSR yang digunakan untuk menghasilkan data polimorfik pada tanaman yang dianalisis.

Untuk mengetahui hubungan kekerabatan antar individu koleksi plasma nutfah PPKS yang dianalisis, dilakukan analisis gerombol (*cluster analysis*), menggunakan metode UPGMA. *E. oleifera* digunakan

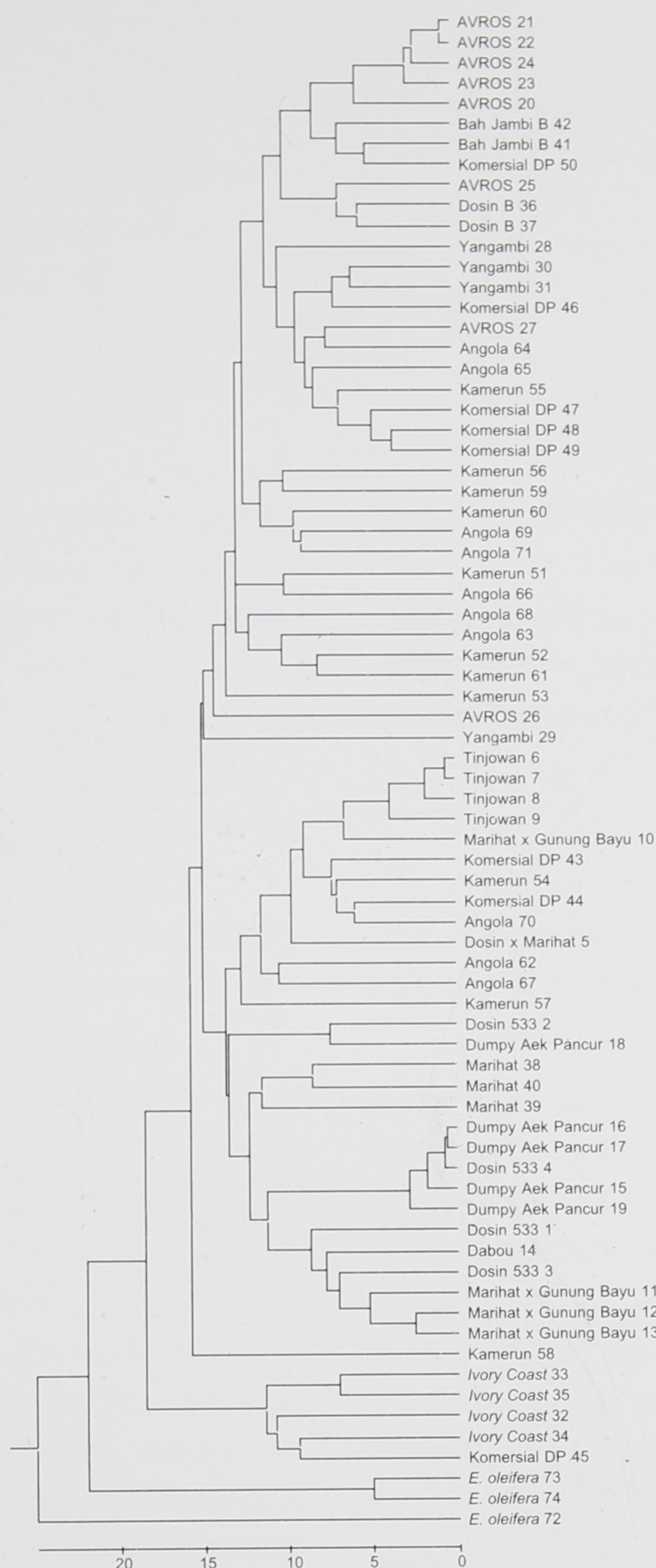


Gambar 1. PIC pada 16 lokus SSR yang digunakan dalam analisis. *Standard error* ditunjukkan oleh garis pada tiap histogram.

sebagai kontrol *out group* bagi spesies *E. guineensis* pada kajian ini. Sementara, sebagai kontrol *in group*, digunakan tiga *fullsib* (AVROS 22, 23 dan 24) yang merupakan generasi ke-4 dari silang dalam yang berulang, yang secara teoritis akan memiliki tingkat kemiripan yang sangat tinggi. Kontrol *out group* dan *in group* akan memberikan acuan bagi jarak genetik tanaman yang dianalisis, baik jarak inter maupun intra spesies. Strategi serupa pernah dilakukan pada kajian kekerabatan genetik kakao, yang dilakukan oleh Charters dan Wilkinson (2000).

Hasil dendrogram menunjukkan bahwa spesies *E. guineensis* terpisah dengan *E. oleífera*, dengan acuan jarak genetik antar spesies sebesar sekitar 78%. Terdapat dua kelompok spesies *E. oleífera* (yaitu *E. oleífera* yang diintroduksi dari Suriname (nomor 70), dan yang diintroduksi dari Brazil (nomor 73 dan 74)). *E. oleífera* dari Suriname memiliki kekerabatan genetik yang lebih dekat dengan *E. guineensis* daripada *E. oleífera* yang berasal dari Brazil. Hal tersebut sesuai dengan informasi yang pernah dilaporkan oleh

Barcelos *et al.* (2002) yang menggunakan RFLP dan AFLP dalam kajiannya, tetapi bertentangan dengan hasil yang diperoleh Billotte *et al.* (2001) yang menggunakan SSR. Hal tersebut mungkin disebabkan oleh perbedaan contoh yang digunakan. Sementara terdapat kisaran genetik yang luas pada *E. oleífera* di Brazil maupun di Suriname. Selain itu, terdapat perbedaan tingkat variabilitas yang diterangkan pada grafik dua dimensi hasil *Factorial Analysis of Correspondence* pada dua kajian tersebut. Hasil yang diperoleh Barcelos *et al.* (2002) adalah 35%, atau lebih tinggi daripada yang diperoleh Billotte *et al.* (2001), yaitu sebesar 20,2%. Dendrogram pada Gambar 2 juga memperlihatkan bahwa tiga individu yang digunakan sebagai kontrol *in group* tidak mengelompok dalam satu kelompok. Hal ini menunjukkan masih tingginya keragaman genetik pada individu hasil silang dalam selama 4 generasi tersebut. Terdapat dua individu hasil silang dalam satu generasi (Tinjowan 6 dan 7) dan dua individu bukan satu projeni (Dumpy Aek Pancur 16 dan 17) yang



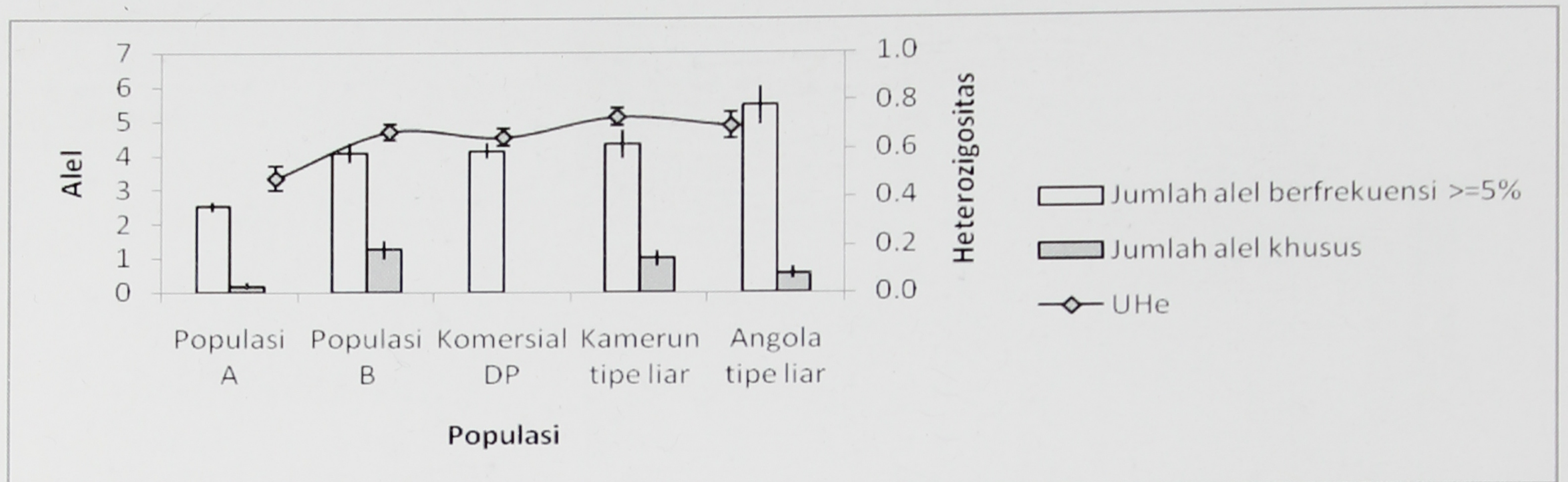
Gambar 2. Dendrogram hasil analisis SSR menggunakan metoda UPGMA terhadap 74 koleksi plasma nutfah PPKS (Tabel 1).

memiliki kesamaan genetik yang lebih besar daripada AVROS 22, 23 dan 24. Hal tersebut menunjukkan sempitnya dasar genetik pada populasi sumber tetua dura dibandingkan pada populasi sumber tetua pisifera, pada program RRS.

Dendrogram pada Gambar 2 menunjukkan bahwa secara garis besar, populasi yang digunakan sebagai sumber tetua dura pada program RRS terpisah secara genetik dengan populasi yang digunakan sebagai sumber tetua pisifera pada program RRS. Hal ini dapat dipahami, karena populasi sumber tetua dura adalah keturunan dura Deli, yang diturunkan hanya dari 4

pohon (Pamin, 1998). Proses seleksi dan silang dalam yang berulang pada populasi ini menyebabkannya memiliki kisaran genetik yang sempit. Sempitnya dasar genetik populasi dura Deli ini sesuai dengan yang pernah dilaporkan oleh Purba *et al.* (2000).

Terpisahya secara genetik populasi sumber tetua dura dan pisifera juga mendukung adanya eksploitasi heterosis pada persilangan dura dengan pisifera untuk produksi benih komersial (Din, 2009). Lebih lanjut dapat diamati bahwa populasi komersial hasil persilangan tetua dura dan pisifera tersebar di antara populasi sumber tetua dura dan pisifera. Hal ini dapat



Gambar 3. Keragaman genetik berdasarkan parameter jumlah alel berfrekuensi $\geq 5\%$, jumlah alel khusus dan heterozigositas (*unbiased heterozygosity*=UHe) pada koleksi plasma nutfah PPKS menggunakan 16 lokus SSR. *Standard error* ditunjukkan oleh garis pada tiap histogram atau grafik.

dipahami karena populasi tersebut merupakan hasil persilangan antara individu-individu pada populasi sumber tetua dura dan pisifera.

Pada populasi sumber tetua pisifera, terdapat berbagai macam asal populasi, sehingga terdapat kisaran genetik yang lebih luas. Tanaman asal Ivory Coast mengelompok terpisah dengan populasi sumber tetua pisifera lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa populasi tersebut memiliki keragaman yang berbeda dengan populasi sumber tetua pisifera yang lain, yang merupakan sumber genetik khusus yang sangat berharga dalam koleksi plasma nutfah PPKS.

Pada dendrogram dapat juga diamati bahwa koleksi kelapa sawit liar yang diintroduksi dari Kamerun dan Angola tersebar secara genetik di antara populasi sumber tetua dura dan pisifera. Hal ini menunjukkan kisaran genetik luas yang dimiliki oleh kelapa sawit liar tersebut, yang berpotensi untuk memberikan alel baru yang belum dimiliki oleh populasi yang digunakan dalam perakitan bahan tanaman komersial.

Lebih lanjut, Gambar 3 menunjukkan keragaman genetik yang dimiliki oleh populasi sumber tetua dura, pisifera, tanaman kelapa sawit komersial dan kelapa sawit liar yang diintroduksi dari Angola dan Kamerun. Dari parameter heterozigositas genetik (UHe) dan jumlah alel berfrekuensi $\geq 5\%$, diperoleh kesimpulan bahwa populasi Angola tipe liar memiliki keragaman genetik tertinggi dibandingkan populasi lainnya,

sedangkan populasi sumber tetua dura memiliki keragaman genetik terendah.

Informasi keragaman genetik yang ditunjukkan oleh Gambar 3 tersebut mendukung hasil analisis kekerabatan genetik sebelumnya. Alel khusus yang terdapat pada populasi liar dari Kamerun dan Angola merupakan potensi genetik yang dapat memperbarui keragaman genetik pada populasi hasil pemuliaan yang telah mengalami erosi genetik. Hasil analisis keragaman genetik per individu akan memberikan informasi bagi pemilihan individu yang akan memberikan nilai kebaruan yang tinggi bagi koleksi plasma nutfah PPKS. Populasi sumber tetua pisifera pada program RRS memiliki keragaman genetik yang lebih tinggi daripada populasi sumber tetua dura. Hal ini disebabkan karena populasi sumber tetua pisifera terdiri dari berbagai tanaman dengan asal yang beragam. Selain itu, tingkat heterozigositas yang lebih tinggi menunjukkan bahwa populasi sumber tetua pisifera masih memiliki potensi yang dapat dikembangkan untuk dilakukan perbaikan genetik secara nyata. Keragaman genetik yang rendah pada populasi sumber tetua dura mengindikasikan perlunya usaha untuk meningkatkan keragaman genetik pada populasi tersebut. Hal ini dapat dilakukan dengan melakukan introgresi kelapa sawit liar ke dalam populasi sumber tetua dura. Tentu saja, dalam membuat persilangan, perlu mempertimbangkan hubungan kekerabatan genetik antar individu yang akan disilangkan, untuk memperkirakan kemungkinan

bahwa persilangan menghasilkan generasi baru dengan karakter genetik yang diharapkan.

Kajian kekerabatan genetik akan memberikan informasi bagi usaha regenerasi plasma nutfah. Dalam usaha regenerasi tersebut, upaya untuk mempertahankan keragaman koleksi yang sudah ada dibatasi oleh ketersediaan sumber daya lahan, tenaga dan biaya. Untuk efisiensi, individu-individu yang memiliki jarak genetik yang sama (atau keragaman genetik yang serupa) tidak perlu diteruskan ke generasi berikutnya. Regenerasi plasma nutfah akan mempertimbangkan keragaman yang diwakili oleh tiap kelompok variabilitas yang ada.

Karakterisasi genetik plasma nutfah PPKS melalui sidik jari DNA, merupakan kajian berkesinambungan untuk memperoleh informasi yang berguna bagi pengelolaan plasma nutfah pada khususnya dan bagi program pemuliaan kelapa sawit pada umumnya. Informasi tersebut memberikan wawasan individu atau populasi yang memiliki keragaman yang tinggi, membantu dalam penentuan persilangan, dan untuk menghindari duplikasi dalam koleksi plasma nutfah, yang merupakan potensi inefisiensi, sehingga memberikan peluang untuk dikoleksinya plasma nutfah lain yang memiliki keragaman baru.

KESIMPULAN

Karakterisasi genetik plasma nutfah PPKS melalui sidik jari DNA memberikan informasi bahwa populasi A sumber tetua dura pada program RRS memiliki jarak genetik yang tinggi dengan populasi sumber tetua pisifera pada program RRS. Populasi sumber tetua pisifera memiliki keragaman genetik yang lebih tinggi daripada populasi sumber tetua dura. Diketahui juga bahwa aksesori kelapa sawit liar dari Kamerun dan Angola memiliki keragaman genetik yang lebih tinggi dibandingkan dengan populasi koleksi plasma nutfah yang lain dan memiliki jarak genetik tersebar ke populasi sumber tetua dura dan populasi sumber tetua pisifera pada program *Reciprocal Recurrent Selection* (RRS).

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang memberikan andil pada penelitian ini.

Ucapan terima kasih terutama ditujukan kepada Tim Kelompok peneliti Pemuliaan dan Bioteknologi Tanaman PPKS atas bantuannya selama penelitian. Terima kasih juga ditujukan kepada manajemen PPKS atas dana yang telah diberikan selama penelitian dan ijin yang diberikan untuk mempublikasikan hasilnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, N., M.R. Yusop, M. Ithnin, and G. Saleh. 2008. Genetic variation among oil palm parent genotypes and their progenies based on microsatellite markers. *Journal of Oil Palm Research* 20:533-541.
- Ajambang, W., Sudarsono, D. Asmono, and N. Toruan. 2012. Microsatellite markers reveal Cameroon's wild oil palm population as a possible solution to broaden the genetic base in the Indonesia-Malaysia oil palm breeding programs *African Journal of Biotechnology* 11:13244-13249.
- Anderson, J.A., G.A. Churchill, S.D. Autrique, S.D. Tanksley, and M.E. Sorrells. 1993. Optimizing parental selection for genetic linkage maps. *Genome* 36:181-186.
- Aranzana, M.J., J. Carbó, and P. Arús. 2003. Microsatellite variability in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch]: cultivar identification, marker mutation, pedigree inferences and population structure. *Theoretical and Applied Genetics* 106:1341-1352.
- Barcelos E., P. Amblard, J. Berthaud, and M. Seguin. 2002. Genetic diversity and relationship in American and African oil palm as revealed by RFLP and AFLP molecular markers. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira* 37:1105-1114.
- Billotte, N., A.M. Risterucci, E. Barcelos, J.L. Noyer, P. Amblard, and F.C. Baurens. 2001. Development, characterization, and across-taxa utility of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) microsatellite markers. *Genome* 44:1-14.
- Billotte, N., N. Marseillac, A.M. Risterucci, B. Adon, P. Brottier, F.C. Baurens, R. Singh, A. Herrán, H. Asmady, C. Billot, P. Amblard, T. Durrand-Gasselin, B. Courtois, D. Asmono, S.C. Cheah,



- W. Rohde, E. Ritter, and A. Charrier. 2005. *Microsatellite-based high density linkage map in oil palm (Elaeis guineensis Jacq.)*. Theoretical and Applied Genetics 110:754-765.
- Blair, M.W., M.C. Giraldo, H.F. Buendia, E. Tovar, M.C. Duque, and S.E. Beebe. 2006. Microsatellite marker diversity in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Theoretical and Applied Genetics 113:100-109.
- Boza, E.J., B.M. Irish, A.W. Meerow, C.L. Tondo, O.A. Rodríguez, M. Ventura-López, J.A. Gómez, J.M. Moore, D. Zhang, J.C. Motamayor, and R.J. Schnell. 2013. Genetic diversity, conservation, and utilization of *Theobroma cacao* L.: genetic resources in the Dominican Republic. Genetic Resources and Crop Evolution 60:605-619.
- Brantestam, A.K., R. Von Bothmer, C. Dayteg, I. Rashal, S. Tuveesson, and J. Weibull. 2004. Inter simple sequence repeat analysis of genetic diversity and relationships in cultivated barley of Nordic and Baltic origin. Hereditas 141:186-192.
- Charters, Y.M. and M.J. Wilkinson. 2000. The use of self-pollinated progenies as 'in-groups' for the genetic characterization of cocoa germplasm. Theoretical and Applied Genetics 100:160-166.
- Cochard, B., B. Adon, S. Rekima, N. Billotte, R.D. de Chenon, Koutou A., Nouy B., Omoré A., Purba A.R., Glazsmann J.-C. dan Noyer J.-L. (2009) Geographic and genetic structure of African oil palm diversity suggests new approaches to breeding Tree Genetics & Genomes 5:493-504.
- Cuc, L.M., E.S. Mace, J.H. Crouch, V.D. Quang, T.D. Long, and R.K. Varshney. 2008. Isolation and characterization of novel microsatellite markers and their application for diversity assessment in cultivated groundnut (*Arachis hypogaea*). BMC Plant Biology 8:55.
- Din, A.K. 2009. Role of oil palm breeding in wealth creation and quality of life. The 8th Malaysia Congress on Genetics, 4-6 August 2009, Genting Highlands, Malaysia.
- Ensslin, A., T.M. Sandner, dan D. Matthies. 2011. Consequences of ex situ cultivation of plants: Genetic diversity, fitness and adaptation of the monocarpic *Cynoglossum officinale* L. in botanic gardens. Biological Conservation 144:272-278.
- Garris, A.J., T.H. Tai, J. Coburn, S. Kresovich, and S. McCouch. 2005. Genetic structure and diversity in *Oryza sativa* L. Genetics 169:1631-1638.
- Geleta, N., M.T. Labuschagne, and C.D. Viljoen. 2006. Genetic diversity analysis in sorghum germplasm as estimated by AFLP, SSR and morpho-agronomical markers. Biodiversity and Conservation 15:3251-3265.
- Hou, B., M. Tian, J. Luo, Y. Ji, Q. Xue, and X. Ding. 2012. Genetic diversity assessment and ex situ conservation strategy of the endangered *Dendrobium officinale* (Orchidaceae) using new trinucleotide microsatellite markers. Plant Systemics and Evolution 298:1483-1491.
- Keller, E.R.J., C.D. Zanke, A. Senula, A. Breuing, B. Hardeweg, dan T. Winkelmann. 2013. Comparing costs for different conservation strategies of garlic (*Allium sativum* L.) germplasm in genebanks. Genetic Resources and Crop Evolution 60:913-926.
- Kirst, M., C.M. Cordeiro, G.D.S.P. Rezende, and D. Grattapaglia. 2005. Power of microsatellite markers for fingerprinting and parentage analysis in *Eucalyptus grandis* breeding populations. Journal of Heredity 96:161-166.
- Koelling, J., M.C. Coles, P.D. Matthews, and A. Schwekendiek. 2012. Development of new microsatellite markers (SSRs) for *Humulus lupulus*. Molecular Breeding 30:479-484.
- Krishnan S., T.A. Ranker, A.P. Davis, and J.J. Rakotomalala. 2013. An assessment of the genetic integrity of ex situ germplasm collections of three endangered species of *Coffea* from Madagascar: implications for the management of old germplasm collections. Genetic Resources and Crop Evolution 60:1021-1036.
- Mayer, F. and G. Kerth. 2005. Microsatellite evolution in the mitochondrial genome of Bechstein's bat (*Myotis bechsteinii*). Journal Molecular Evolution 61:408-416.

- Negri, V. and Tiranti B. 2010. Effectiveness of in situ and ex situ conservation of crop diversity. What a *Phaseolus vulgaris* L. landrace case study can tell us. *Genetica* 138:985–998.
- Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals *Genetics* 89:583-590.
- Ottewell, K.M., S.C. Donnellan, G.F. Moran, and D.C. Paton. 2005. Multiplexed microsatellite markers for the genetic analysis of *Eucalyptus leucoxylon* (Myrtaceae) and their utility for ecological and breeding studies in other *Eucalyptus* species. *Journal of Heredity* 96: 445-451.
- Pamin, K. 1998. A hundred and fifty years of oil palm development in Indonesia: from the Bogor Botanical Garden to the industry, IOPC, IOPRI.
- Pardi, F., R.M. Sibly, M.J. Wilkinson, and J.C. Whittaker. 2005. On the structural differences between markers and genomic AC microsatellites. *Journal of molecular evolution* 60:688-693.
- Peakall, R. and P.E. Smouse. 2006. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*:288-295.
- Perera, M.F., M.E. Arias, D. Costilla, A.C. Luque, M.B. García, C.D. Romero, J. Racedo, S. Ostengo, Filippone M.P., Cuenya M.I. and A.P. Castagnaro. 2012. Genetic diversity assessment and genotype identification in sugarcane based on DNA markers and morphological traits. *Euphytica* 185:491-510.
- Purba, A.R., J.L. Noyer, L. Baudouin, X. Perrier, S. Hamon, and P.J.L. Lagoda. 2000. A new aspect of genetic diversity of Indonesian oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) revealed by isozyme and AFLP markers and its consequences for breeding. *Theoretical and Applied Genetics* 101:956-961.
- Rajesh, M.K., P. Nagarajan, B.A. Jerard, V. Arunachalam, and R. Dhanapal. 2008. Microsatellite variability of coconut accessions (*Cocos nucifera* L.) from Andaman and Nicobar Islands. *Current Science* 94:1627-1631.
- Rakoczy-Trojanowska, M. and H. Bolibok. 2004. Characteristics and a comparison of three classes of microsatellite-based markers and their application in plants. *Cellular & Molecular Biology Letters* 9:221-238.
- Tamura K., J. Dudley, M. Nei, and S. Kumar. 2007. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular Biology and Evolution* 24:1596-1599.
- Teulat B., C. Aldam, R. Trehin, P. Lebrun, J.H.A. Barker, G.M. Arnold, A. Karp, L. Baudouin, and F. Rognon. 2000. An analysis of genetic diversity in coconut (*Cocos nucifera*) populations from across the geographic range using sequence-tagged microsatellites (SSRs) and AFLPs. *Theoretical and Applied Genetics* 100:764-771.
- Wening, S. dan Y. Yenni. 2013. Optimasi analisa sidik jari DNA kelapa sawit. *Pertemuan Teknis Kelapa Sawit 2013*, Pusat Penelitian Kelapa Sawit, Jakarta.
- Wening, S., A.E. Croxford, C.S. Ford, W.T.B. Thomas, B.P. Forster, G. Okyere-Boateng, S.P.C. Nelson, P.D.S. Caligari, and M.J. Wilkinson. 2012. Ranking the value of germplasm: new oil palm (*Elaeis guineensis*) breeding stocks as a case study. *Annals of Applied Biology* 160:145–156.
- Wening, S., W.U. Ananda, A.E. Croxford, C.S. Ford, W.T.B. Thomas, B.P. Forster, G. Okyere-Boateng, S.P.C. Nelson, M.J. Wilkinson, and P.D.S. Caligari. 2010. Graphical genotyping of oil palm genetic diversity. *International Oil Palm Conference*, IOPRI, Yogyakarta.
- Zaccardelli, M., G. Sonnante, F. Lupo, A.R. Piergiovanni, G. Laghetti, F. Sparvoli, and L. Lioi. 2012. Characterization of Italian chickpea (*Cicer arietinum* L.) germplasm by multidisciplinary approach. *Genetic Resource and Crop Evolution* 60:865-877.