

**ANALISIS KERAGAMAN GENETIK KENTANG HITAM [*Plectranthus rotundifolius* (Poiret) Sprengel] BERDASARKAN MARKA ISSR DAN RAPD.
[Analysis of genetic variations of 'kentang hitam' *Plectranthus rotundifolius* (Poiret) Sprengel based on ISSR and RAPD marker]**

**Kusumadewi Sri Yulita[✉], Fajarudin Ahmad, Diyah Martanti,
Yuyu S. Poerba, dan Herlina**

[✉]Bidang Botani, Pusat penelitian Biologi LIPI
Jl. Raya Bogor Km.46, Cibinong, Kab. Bogor 16911
email: yulita.kusumadewi@gmail.com

ABSTRACT

Kentang hitam [*Plectranthus rotundifolius* (Poiret) Sprengel] of family Lamiaceae is a minor root crop known only for people living in some parts of Java, Bali and Madura. It was rarely found in its natural habitat, thus it was assumed to have low level of genetic diversity. This present study aimed to assess genetic diversity of 63 accessions of kentang hitam from provenances of Java based on Inter Simple Sequence Repeats (ISSR) and Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) fingerprints. Ten primers of ISSR and RAPD were initially screened and eight were selected for the analysis. These eight primers (OPA13, OPB10, OPB13, OPD8, OPN14, UBC 807, 834 and 835) generated 61 bands with an average of 7.63 polymorphic fragment per primer. Percentage of polymorphism ranged from 8.20% (UBC 807 and 834) to 16.39% (OPB 10) with an average of 12.50% polymorphism. Clustering analysis was performed based on ISSR and RAPD profiles using the neighbour joining method and Principle Coordinate Analysis (PCO). The range of genetic similarity among accessions was 51-100% to which most of the accessions were clustered with more than 80% similarity. This confirmed our hypothesis of the low level of variation existed among accessions.

Key words: Kentang hitam, genetic variation, ISSR, RAPD, *Plectranthus rotundifolius* (Poiret) Sprengel.

ABSTRAK

Kentang hitam [*Plectranthus rotundifolius* (Poiret) Sprengel] adalah salah satu umbi-umbian minor yang hanya dikenal oleh kalangan terbatas penduduk di Pulau Jawa, Bali and Madura. Jenis ini sulit ditemui tumbuh meliar di habitat aslinya sehingga keragaman genetiknya diduga cukup rendah. Penelitian ini bertujuan untuk memperkirakan keragaman genetik 63 aksesori kentang hitam yang berasal dari Jawa dengan menggunakan marka Inter Simple Sequence Repeats (ISSR) dan Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD). Skrining dilakukan pada sepuluh primer ISSR dan RAPD, dan delapan diantaranya dipilih untuk analisis. Kedelapan primer ini (OPA13, OPB10, OPB13, OPD8, OPN14, UBC 807, 834 dan 835) menghasilkan 61 pita DNA yang jelas dan dapat diskor, dengan rata-rata jumlah pita polimorfik per primer adalah 7,63. Presentasi pita polimorfik berkisar antara 8,20% (UBC 807 and 834) hingga 16,39% (OPB 10) dengan rata-rata polimorfisme sebesar 12,50%. Profil ISSR dan RAPD ini selanjutnya digunakan untuk melakukan analisis pengelompokan menggunakan metoda *neighbour joining* dan *Principal Coordinate Analysis* (PCO). Rentang kesamaan genetik erkasir antara 51-100% dimana sebagian besar aksesori mengelompok dengan nilai kesamaan lebih dari 80%. Hal ini mengkonfirmasi hipotesis kami tentang rendahnya keragaman genetik aksesori kentang hitam.

Kata kunci: Kentang hitam, keragaman genetik, ISSR, RAPD, *Plectranthus rotundifolius* (Poiret) Sprengel.

PENDAHULUAN

Masyarakat Indonesia memanfaatkan umbi-umbian terutama misalnya ketela pohon, ubi jalar, gayam dan kentang terutama sebagai sumber karbohidrat. Umbi-umbi populer tersebut sudah banyak dikenal luas di pasaran lokal dan mudah didapat. Namun demikian ada beberapa umbi-umbian yang kurang populer dan hanya dikenal serta dimanfaatkan oleh masyarakat dalam skala terbatas, diantaranya kentang hitam *Plectranthus rotundifolius* (Poiret) Sprengel. Jenis ini memiliki beberapa nama sinonim, yaitu *Coleus rotundifolius*

(Poir.) A. Chev. & E. Perrot, *Coleus dysentericus* Bak., *Solenostemon rotundifolius* (Poir.) J.K. Morton dan *Plectranthus tuberosus* Blume (Lukhoba *et al.*, 2006; the plant list, 2014). Umbi kentang hitam kurang populer bagi masyarakat Indonesia, kecuali oleh penduduk di pulau Jawa, Bali dan Madura (Jansen, 1996). Kentang hitam dikonsumsi sebagai sayuran, direbus atau sebagai campuran sajian sebagai pengganti kentang. Selain dapat dipakai sebagai pengganti kentang, dan sayuran serta diolah menjadi makanan camilan, pati kentang hitam juga dapat dipakai sebagai bahan

penyatu atau pemencar dalam industri farmasi. Tanaman yang berasal dari Afrika Barat ini resisten terhadap penyakit yang diakibatkan serangan jamur namun tanaman ini sangat peka terhadap serangan cacing nematoda (Jansen, 1996).

Keragaman genetik tanaman ini diperkirakan sempit karena tanaman ini sudah dibudidayakan secara luas yang diperbanyak secara vegetatif dan hampir tidak pernah dijumpai tumbuh meliar. Studi ini bertujuan untuk mengetahui secara lebih akurat bagaimana variasi genetik kentang hitam di Jawa dengan menggunakan marka RAPD dan ISSR. 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 (Jain *et al.*, 2007; Malik *et al.*, 2006; Shabaan *et al.*, 2006) serta memperkirakan keragaman genetik jenis-jenis pohon kayu tropis (Siregar *et al.*, 2008; 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. *Inter-simple sequence repeats* (ISSR) juga merupakan marka molekuler berbasis PCR, yang mengamplifikasi daerah diantara dua ulangan nukleotida pendek (mikrosatelit) (Zietkiewicz *et al.*, 1994). Keuntungan utama dari marka ini adalah dapat menganalisa multi lokus dalam reaksi tunggal. ISSR telah banyak digunakan untuk mendeteksi keragaman genetik dan kekerabatan genetik (Rucinska dan Puchalski, 2010; Isshiki *et al.*, 2008; Liu *et al.*, 2006), identifikasi genotipe (Fracaro dan Echeverrigaray, 2006; Mattioni *et al.*, 2002) serta identifikasi mutan (Campbell *et al.*, 2011; Yadav *et al.*, 2006).

BAHAN DAN CARA KERJA

Sampel

Sampel yang digunakan pada studi ini terdiri atas 63 aksesi kentang hitam yang berasal dari 11 lokasi di Jawa (Tabel 1). Material untuk analisis DNA berupa daun segar yang disimpan dalam silika gel.

Tabel 1. Daftar lokasi asal pengambilan sampel kentang hitam di Jawa (*List of samples and their locations*)

No (No)	No aksesi (Accession no).	Lokasi asal (Origin)
1	KH 1	Ds. Mertelu Kec. Gedhong Sari Gunung Kidul
2	KH 11	Ds. Mertelu Kec. Gedhong Sari Gunung Kidul
3	KH 3	Ds. Mertelu Kec. Gedhong Sari Gunung Kidul
4	KH 4	Ds. Mertelu Kec. Gedhong Sari Gunung Kidul
5	KH 28	Pasar Klaten 2, Ds. Sered Kec Gedong Sari Gunung Kidul
6	KH 29	Pasar Klaten 2, Ds. Sered Kec Gedong Sari Gunung Kidul
7	KH 32	Desa Begal Kec. Kedung sari, Gunung Kidul
8	KH 33	Desa Begal Kec. Kedung sari, Gunung Kidul
9	KH 23	Begal, Panjatan, Kulon Progo
10	KH 24	Begal, Panjatan, Kulon Progo
11	KH 5	Clereng Kec. Pengasih kulon Progo
12	KH 13	Clereng Kec. Pengasih kulon Progo
13	KH 16	Bugel, Panjatan, Kulon Progo

Tabel 1. Daftar lokasi asal pengambilan sampel kentang hitam di Jawa (lanjutan)
 [List of samples and their locations (continued)]

14	KH 17	Bugel, Panjatan, Kulon Progo
15	KH 7	Ds. Glintung Tegal Kec. Sambu, Kab. Boyolali
16	KH 8	Ds. Glintung Tegal Kec. Sambu, Kab. Boyolali
17	KH 20	Pasar Klaten 1, Sambu, Boyolali
18	KH 21	Pasar Klaten 1, Sambu, Boyolali
19	KH 35	Desa Tegal Kel. Glintang Kec. Sambu Kab. Boyolali
20	KH 36	Desa Tegal Kel. Glintang Kec. Sambu Kab. Boyolali
21	KH 25	Ds. Begal. (3) Kec. Kejong Gulat, Kab. Ngawi
22	KH 26	Ds. Begal. (3) Kec. Kejong Gulat, Kab. Ngawi
23	KH 27	Ds. Begal. (3) Kec. Kejong Gulat, Kab. Ngawi
24	KH 38	Cerug Bitung, Tangerang
25	KH 41	Ds. Sindang karya, Tangerang
26	1 KH	Pdgl Kampung Panistongo, Kec. Jiput, Kab. Pandeglang
27	2 KH	Pdgl Kampung Panistongo, Kec. Jiput, Kab. Pandeglang
28	3 KH	Pdgl Kampung Panistongo, Kec. Jiput, Kab. Pandeglang
29	4 KH	Pdgl Kampung Panistongo, Kec. Jiput, Kab. Pandeglang
30	5 KH	Pdgl Kampung Panistongo, Kec. Jiput, Kab. Pandeglang
31	16 HLBK	Desa Sangiang, Kec. Maja, Kab. Lebak
32	17 KHLBK	Desa Sangiang, Kec. Maja, Kab. Lebak
33	18 KHLBK	Desa Sangiang, Kec. Maja, Kab. Lebak
34	19 KHLBK	Desa Sangiang, Kec. Maja, Kab. Lebak
35	20 KHLBK	Desa Sangiang, Kec. Maja, Kab. Lebak
36	21 KHPK	Desa Gondoarum, Perbatasan Kab. Pati dan Kudus
37	22 KHPK	Desa Gondoarum, Perbatasan Kab. Pati dan Kudus
38	23 KHPK	Desa Gondoarum, Perbatasan Kab. Pati dan Kudus
39	24 KHPK	Desa Gondoarum, Perbatasan Kab. Pati dan Kudus
40	KHBgr1	Bogor
41	KHBgr2	Bogor
42	KHBgr3	Bogor
43	25 KHJB	Desa Barengkok, Kec. Jasinga, Kab. bogor
44	26 KHJB	Desa Barengkok, Kec. Jasinga, Kab. bogor
45	42 KHBLJ	Kec. Leuwiliang-Jasinga, Kab. Bogor
46	43 KHBLJ	Kec. Leuwiliang-Jasinga, Kab. Bogor
47	9 KHBT1	Desa Babakan, Kec. Tenjo, Kab. bogor
48	10 KHBT1	Desa Babakan, Kec. Tenjo, Kab. bogor
49	12 KHBT2	Desa Cilaku, Kec. Tenjo, Kab. Bogor
50	15 KHBT2	Desa Cilaku, Kec. Tenjo, Kab. Bogor

Tabel 1. Daftar lokasi asal pengambilan sampel kentang hitam di Jawa (lanjutan)
 [List of samples and their locations (continued)]

51	56 KHSlo1	Kab. Solo
52	57 KHSlo1	Kab. Solo
53	58 KHSlo1	Kab. Solo
54	63 KHSlo2	Kab. Solo
55	64 KHSlo2	Kab. Solo
56	65 KHSlo2	Kab. Solo
57	98 KH 9	Desa Bendil Kec. Berbek kab. Nganjuk
58	99 KH 18	Desa Bendil Kec. Berbek kab. Nganjuk
59	69 KHBBN	Berbek-Bendil-Nganjuk
60	70 KHBBN	Berbek-Bendil-Nganjuk
61	49 KHNg1	Kab. Nganjuk
62	54 KHNg2	Kab. Nganjuk
63	55 KHNg2	Kab. Nganjuk

Tabel 2. Daftar primer RAPD dan ISSR yang digunakan untuk amplifikasi DNA genom kentang hitam (List of RAPD and ISSR primers used to amplify genomic DNA of black potatoes)

Primer RAPD	Sekuen (sequence)	Primer ISSR	Sekuen (sequence)
OPA-13	CAGCACCCAC	UBC-807	AGAGAGAGAGAGAGAGT
OPB-10	CTGCTGGGAC	UBC-834	AGAGAGAGAGAGAGAG YT
OPB 13	TTCCCCCGCT	UBC-835	AGAGAGAGAGAGAGAGYC
OPD-8	GTGTGCCCCA		
OPN-14	TCGTGCGGGT		

Isolasi DNA

Isolasi total DNA genom dilakukan menggunakan metode CTAB (Doyle dan Doyle 1990) yang telah dimodifikasi dengan penambahan RNase 200 µg/mL.

Protokol amplifikasi PCR.

Total DNA genom seluruh sampel kentang hitam diamplifikasi dengan menggunakan lima primer RAPD, yaitu OPA13, OPB10, OPB13, OPD8, dan OPN14 dan tiga primer ISSR yaitu UBC 807, 834 dan 835 (Tabel 2). Volume reaksi total PCR adalah 15 µl yang terdiri atas 1x PCR Master Mix (Fermentas), 2 µM primer (Promega),

dan ~10 ng DNA cetakan. Kondisi optimum untuk amplifikasi PCR RAPD adalah denaturasi awal pada suhu 94 °C selama 2 menit, diikuti oleh 45 siklus yang terdiri atas: fase denaturasi (94°C selama 1 menit); fase penempelan (36 °C selama 1 menit) dan fase pemanjangan (72 °C selama 2 menit) (Williams *et al.* 1990). Setelah 45 siklus selesai, proses amplifikasi PCR diakhiri dengan fase pemanjangan pada suhu 72 °C selama 5 menit.

Kondisi optimum untuk amplifikasi PCR ISSR adalah sebagai berikut: denaturasi awal pada suhu 94 °C selama 5 menit, diikuti oleh 30 siklus yang terdiri dari: fase denaturasi (94 °C selama 1 menit); fase penempelan (50 °C selama 45 detik) dan fase

pemanjangan (72⁰C selama 2 menit). Setelah 30 siklus selesai, proses amplifikasi PCR diakhiri dengan fase pemanjangan pada suhu 72⁰ C selama 5 menit.

Analisis data

Analisis hanya dilakukan untuk primer yang menghasilkan pita polimorfik. Setiap pita RAPD dan ISSR dianggap sebagai satu lokus putatif. Hanya lokus yang menunjukkan pita yang jelas yang digunakan untuk diskor 1 bila ada pita dan 0 bila tidak ada pita. Kedua data set tersebut digabung untuk diskor hingga membentuk matriks binari dengan program Microsoft Excel. Matriks tersebut kemudian diolah dengan menggunakan program NTSys-PC (Numerical Taxonomy System, versi 2.02i, Rohlf, 1998) untuk menghitung koefisien kesamaan DICE. Matriks kesamaan ini kemudian digunakan untuk membuat dendrogram

Neighbour Joining. *Principal Coordinate Analysis* (PCO) juga dilakukan dengan menggunakan program yang sama untuk mengevaluasi variasi sebaran aksesi dalam diagram 3 dimensi.

HASIL

Analisis RAPD yang menggunakan lima primer telah menghasilkan 45 pita, dan tujuh (15%) diantaranya pita monomorfik, yaitu OPN14 ukuran 500bp, OPN14 ukuran 600bp, OPB17 ukuran 300bp, OPB10 ukuran 600bp, OPA13 ukuran 500bp, OPA13 ukuran 650bp, dan OPA13 ukuran 800bp (Tabel 2). Untuk ISSR, amplifikasi dilakukan menggunakan tiga primer dan menghasilkan 16 pita yang jelas dan dapat diskor, tiga diantaranya pita monomorfik, yaitu UBC835 ukuran 550bp, UBC835 ukuran 650bp, dan UBC835 ukuran 950bp (Tabel 3).

Tabel 3. Prosentase polimorfisme pada tiga primer ISSR dan lima primer RAPD. (*Percentage of polymorphism obtained from three primers of ISSR and five primers of RAPD*)

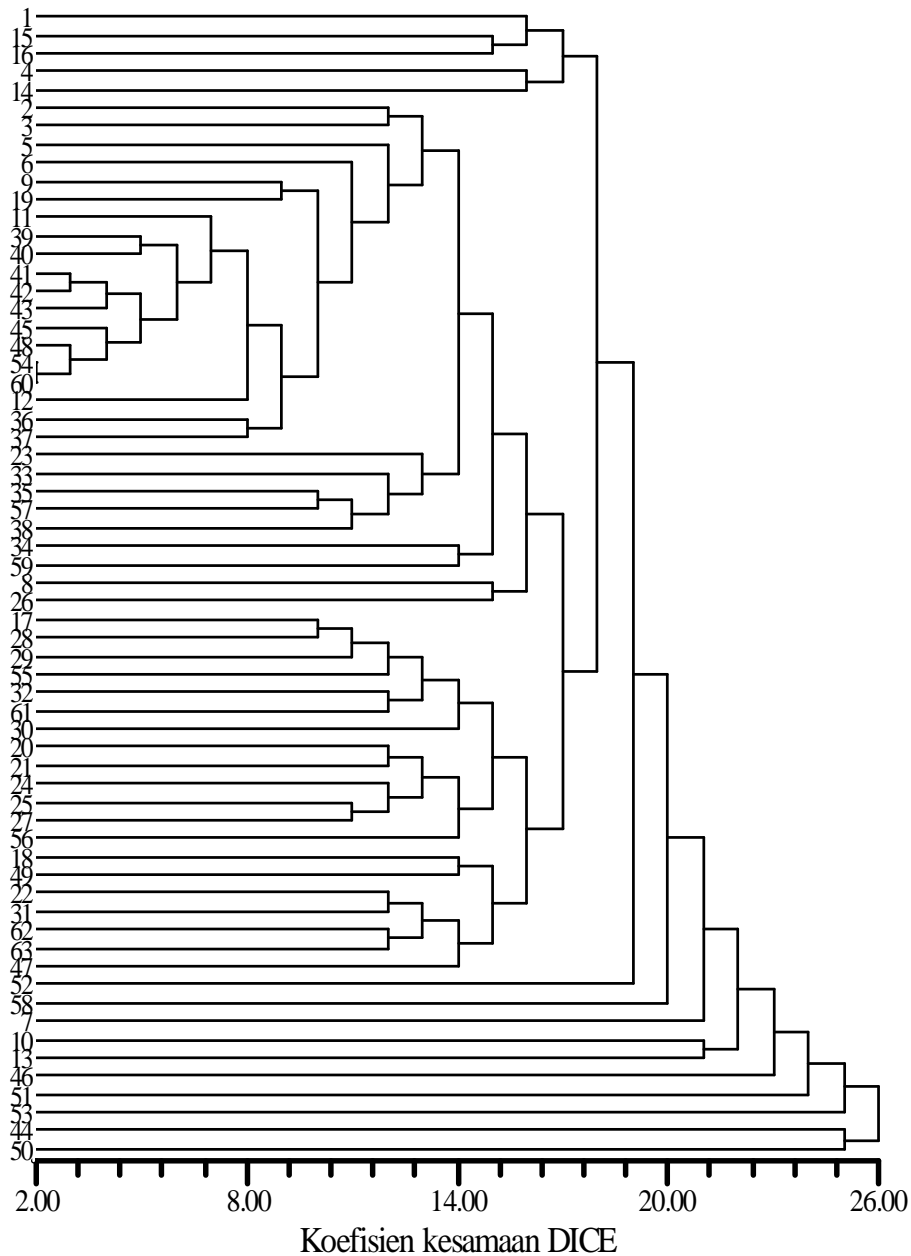
Nama (Name)	Urutan DNA (DNA sequence)	Number and percentage of polymorphic loci (PPL)	Rentang ukuran pita (Band sizes) (bp)	Ukuran pita umum (Common band sizes) (bp)
OPA 13	5' CAG CAC CCA C 3'	9 (14,75%)	400-1800	500, 650, 800
OPB 10	5' CTG CTG GGA C 3'	10 (16,39%)	400-1600	600
OPB 17	5' AGG GAA CGA G 3'	8 (13,11%)	300-1300	300
OPD 8	5' GTG TGC CCC A 3'	9 (14,75%)	400-1100	-
OPN 14	5' TGG TGC GGG T 3'	9(14,75%)	400-1000	500, 600
UBC 807	5' (AG) ₈ T 3'	5 (8,20%)	550-1100	-
UBC 834	5' (AG) ₈ YT 3'	5 (8,20%)	280-1100	-
UBC 835	5' (AG) ₈ YC 3'	6 (9,84%)	550-950	550, 650 dan 950
Rata-rata Average		7,63 (12,50%)		

Analisis pengelompokan dilakukan dengan menggunakan metode neighbour joining dan analisis ordinasi. Kisaran jarak genetik aksesi kentang hitam antara 51-100% (data jarak genetik tidak ditampilkan) menunjukkan rendahnya keragaman genetik karena sebagian besar aksesori memiliki kesamaan genetik >80%. Keseluruhan

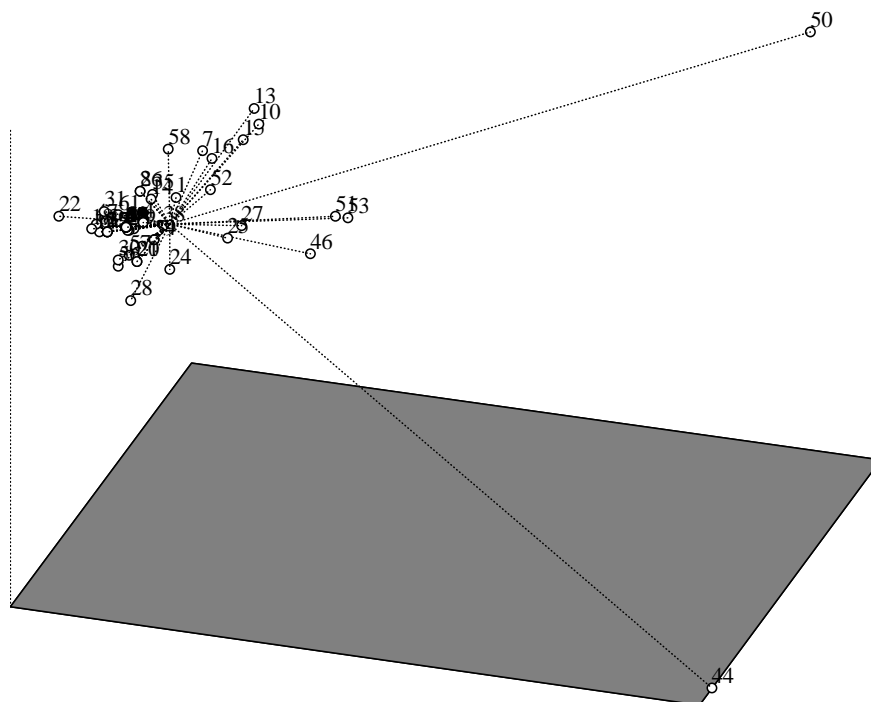
aksesi bergabung membentuk kelompok atas dasar ketidaksamaan 2-26% (Gambar 1) mengindikasikan bahwa seluruh aksesi memiliki kemiripan yang tinggi. Aksesori yang paling mirip adalah no.54 dan 60 yang hanya memiliki perbedaan 2%. Namun pada diagram 3-dimensi hasil analisis ordinasi hampir seluruh aksesi membentuk 1 kelompok

besar (Gambar 2) kecuali aksesi 44 dan 51 yang terpisah jauh dari aksesi lainnya. Berdasarkan dendrogram (Gambar 1) aksesi yang paling berbeda adalah 44 dan 50, walaupun aksesi 51 tetap merupakan aksesi yang memiliki perbedaan dari

sebagian besar aksesi lainnya. Kelompok besar ini tidak mengelompok berdasarkan provenansi namun secara acak, walaupun ada hanya sebagian dari aksesi yang berasal dari Gunung Kidul dan Bogor (Gambar 1).



Gambar 1. Dendrogram neighbour joining berdasarkan profil ISSR dan RAPD pada 63 aksesi kentang hitam. Nomor aksesi sesuai dengan Tabel 1. (*Neighbour joining dendrogram based on ISSR and RAPD profiles on 63 accessions of black potatoes. Accession numbers correspond to Table 1).*



Gambar 2. Diagram tiga-dimensi PCO pada 63 aksesori kentang hitam. Nomor aksesori sesuai dengan tabel 1 (*Three-dimensional PCO diagram of 63 accessions of black potatoes. Accession numbers correspond to Table 1*).

Dua aksesori yang memiliki jarak genetik terjauh yang bergabung dalam satu kluster yaitu aksesori no. 44, KHJB Desa Barengkok, Kec. Jasinga, Kab. Bogor dan no. 51, KHBT2 Desa Cilaku, Kec. Tenjo, Kab. Bogor (Gambar 1). Aksesori 44 memiliki jarak genetik terjauh dengan aksesori 21, KH 25 yang berasal dari Ds. Begal. (3) Kec. Kejong Gulat, Kab. Ngawi) dengan koefisien kesamaan 51%. Aksesori 50 memiliki jarak genetik terjauh dengan aksesori 19, KH 35 yang berasal dari Desa Tegal Kel. Glintang Kec. Sambu Kab. Boyolali dengan koefisien kesamaan 54%.

PEMBAHASAN

Seluruh profil ISSR dan RAPD berupa sekumpulan pita-pita DNA yang dianggap sebagai lokus putatif dan merupakan sidik DNA aksesori. Pengamatan terhadap pola pita DNA hasil amplifikasi menunjukkan profil DNA yang berbeda-beda. Perbedaan ini disebabkan oleh perbedaan

urutan nukleotida pada kesembilan primer yang digunakan, sehingga menyebabkan perlekatan primer di sepanjang DNA genom sampel juga berbeda. Pita yang dihasilkan setelah amplifikasi DNA dengan PCR sangat bergantung pada bagaimana primer mengenal daerah komplemennya pada cetakan DNA yang digunakan. Semakin banyak situs penempelan dari primer yang digunakan, maka semakin banyak jumlah pita DNA yang dihasilkan (Tingey *et al.*, 1994).

Hasil analisis pengelompokan dan ordinasikan menggambarkan kesamaan genotipe antar aksesori kentang hitam yang terukur dari jarak genetik. Sempitnya jarak genetik diantara aksesori kentang hitam ini menunjukkan rendahnya keragaman genetik diantara provenansi. Hal ini sesuai dengan hipotesis yang diajukan bahwa kentang hitam sulit dijumpai tumbuh meliar. Kentang hitam berasal dari Afrika dan sudah lama dibudidayakan oleh manusia melalui umbinya dan batangnya.

Introduksi kentang hitam di Indonesia yang sudah lama dan kebanyakan tanaman dilakukan secara vegetatif ini yang kemungkinan berakibat pada penyempitan genetik kentang hitam. Tanaman yang memiliki jarak genetik yang dekat menggambarkan tingginya kesamaan genetik yang apabila dikawinsilangkan akan menghasilkan individu tanaman dengan keragaman genetik yang rendah. Keragaman genetik yang rendah akan berimplikasi terhadap kesintasan individu yang juga cukup rendah karena kurang beragamnya gen yang diturunkan dari induk. Oleh karena itu, dalam pemuliaan dan perbaikan genetik kentang hitam harus dipertimbangkan untuk melakukan pengayaan genetik dengan mengevaluasi plasma nutfah kerabat liar kentang hitam lainnya.

KESIMPULAN

Hasil penelitian kentang hitam dari berbagai aksesori di pulau Jawa menghasilkan profil ISSR dan RAPD yang menunjukkan prosentasi pita polimorfik yang berkisar antara 8,20%-16,39% dengan rata-rata polimorfisme sebesar 12,50%. Analisis pengelompokan dengan metoda *neighbour joining* dan *Principal Coordinate Analysis* (PCO) menunjukkan rentang kesamaan genetik dengan koefisien DICE berkisar antara 51-100% dan sebagian besar aksesori mengelompok dengan nilai kesamaan genetik yang tinggi lebih dari 80%. Hal ini menunjukkan rendahnya variasi genetik diantara aksesori kentang hitam yang diteliti.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini sepenuhnya didanai proyek DIPA tahun 2011 dan 2012, Pusat Penelitian Biologi-LIPI. Terima kasih kepada peneliti dan teknisi Laboratorium Kultur Jaringan yang telah memberikan material DNA kentang hitam.

DAFTAR PUSTAKA

- Campbell BCS, G LeMare, Piperidis and ID Godwin. 2011. IRAP, a retrotransposon-based marker system for the detection of somaclonal variation in barley. *Molecular breeding* 27(2), 193-206.
- Doyle JJ and JL Doyle. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12, 13-15.
- Fracaro F and S Echeverrigaray. 2006. Genetic variability in *Hesperozygis ringens* Benth. (Lamiaceae), an endangered aromatic and medicinal plant of Southern Brazil. *Biochemical genetics* 44, (11/12) DOI: 10.1007/s10528-006-9044-z.
- Isshiki S, N Iwata and MMR Khan. 2008. ISSR variation in eggplant (*Solanum melongena* L.) and related *Solanum* species. *Scientia Horticulturae* 117, 186-190.
- Jain PK, L Saini, MH Pathak and 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.
- Jansen PCM. 1996. *Plectranthus rotundifolius* (Poir.) Sprengel. In: Plant Yielding non-seed Carbohydrates. Flach M and F Rumawas (Eds.), 9: 156-159. Prosea Foundation. Bogor.
- Jiminez 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.
- Liu J, L Wang, Y Geng, Q Wang, L Luo and Y Zhong. 2006. Genetic diversity and population structure of *Lamiophlomis rotate* (Lamiaceae), an endemic species of Qianghai-Tibet Plateau. *Genetica* 28, 385-394.
- Lukhoba CW, MSJ Simmonds and AJ Paton. 2006. *Plectranthus*: A review of ethnobotanical uses. *Journal of Ethnopharmacology* 103(1), 1-24. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874105006215> (diunduh 18 april 2013)
- 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. *Genetic resources and crop evolution* 53, 1485-1493.
- Mattioni C, M Casasoli, M Gonzales, and R Ipinza. 2002. Comparison of ISSR and RAPD markers to characterise three Chilean *Notofagus* species. *Theoretical and Applied Genetics* 104, 1064-1070. *Plectranthus rotundifolius* (Poir.) Spreng. www.theplantlist.org (diunduh 12 januari 2014).
- Poerba YS, A Wawo and KS Yulita. 2007. Keragaman Fenotipe RAPD *Santalum album* L. di Pulau Timor bagian timur. *Berita Biologi* 8(6), 537- 546.
- Rohlf FJ. 1998. NTSYS-PC. Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis. Version 2.02i. New York: Exeter Software.
- Rucinska A and J Pulchaski. 2010. Comparative molecular studies on the genetic diversity of an ex situ garden collections and its source population of the critically endangered polish endemic plant *Cochlearia polonica* E. Frochlich. *Biodiversity Conservation* DOI: 10.1007/s10531-010-9965-z.
- Tingey SV, JA Rafalski and MK Hanafey. 1994. Genetic analysis with RAPD markers. In: *Plant Molecular Biology*. Coruzzi C, Puidormenech P (eds), 491-498. Berlin, Pringer.
- Shaaban EA, SKH Abd-El-Aal., NS Zaided and AA Rizkalla. 2006. Assessment of genetic variability on some orange accessions using RAPD DNA markers. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences* 2(6), 564-570.

- Siregar IZ, T Yunanto and P Pamoengkas. 2008.** Implikasi genetic metode pembiakan tanaman *Shorea johorensis* Foxw. Pada sistem silvikultur tebang pilih tanam jalur (TPTJ). *Biodiversitas* **9(4)**, 250-254.
- Williams JGK, AR Kubelik, KJ Livak, JA Rafalski and SV Tingey. 1990.** DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research* **18**, 6531-6535.
- Yadav PV, KU Suprasanna, Gopalrao, and BV Anant. 2006.** Molecular profiling using RAPD technique of salt and drought tolerant regenerants of sugarcae. *Sugar Technology Reviews* **8(1)**, 63-68.
- Zietkiewicz EA Rafalski and D Labuda. 1994.** Genomic fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics* **20**, 176-183.