

Makalah Utama: Keragaman genetik anakan *Shorea smithiana* pada plot STREK, Kalimantan Timur berdasarkan penanda SSR

Genetic diversity of *Shorea smithiana* seedling in STREKplot, East Kalimantan based on SSR markers

A.Y.P.B.C. WIDYATMOKO

Balai Besar Penelitian Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan, Yogyakarta. Jl. Palagan Tentara Pelajar Km. 15, Purwobinangun, Pakem, Sleman 55582, Yogyakarta. Tel./Fax. +62-274-896080, *email: aviwicaksono@yahoo.com

Manuskrip diterima: 10 Februari 2015. Revisi disetujui: 26 April 2015.

Abstrak. Widyatmoko AYPBC. 2015. Keragaman genetik anakan *Shorea smithiana* pada plot STREK, Kalimantan Timur berdasarkan penanda SSR. Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon 1: 393-397. Berbagai teknik silvikultur telah dikembangkan dan dilakukan untuk menjaga pengelolaan hutan secara lestari. Salah satu plot penelitian teknik silvikultur adalah Plot Penelitian STREK (Plot STREK), yang terletak di Labanan, Berau, Kalimantan Timur. Plot ini dibangun pada tahun 1989 untuk mengukur laju pertumbuhan pemulihan hutan hujan tropika setelah dilakukan kegiatan pembalakan hutan (*logging*). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh sistem penebangan yang dilakukan terhadap keragaman genetik anakan *Shorea smithiana*. Sampel daun anakan *S. smithiana* dari 4 blok (2 blok *virgin forest*, *Reduced Impact Logging*/RIL > 50 cm dbh, dan pembalakan konvensional > 50 cm dbh) dikoleksi untuk kegiatan penelitian. Jumlah sampel anakan bervariasi antara 3-24. Dua puluh lima alel dihasilkan dari tiga primer SSR yang dikembangkan pada *S. curtisii* dan digunakan untuk analisis keragaman genetik. Keragaman genetik masing-masing blok dihitung menggunakan program POPGENE 1.32. Keragaman genetik pada 4 blok tersebut bervariasi antara 0,4762 sampai dengan 0,5481. Keragaman tertinggi dimiliki oleh anakan dari blok *virgin forest* (0,5481), sedangkan yang terendah pada RIL > 50 cm dbh (0,4762). Secara umum terjadi penurunan keragaman genetik setelah dilakukan penebangan dibandingkan dengan *virgin forest* sebesar $\pm 10\%$. Hasil dari penelitian ini dapat menjadi masukan untuk pelaksanaan sistem silvikultur agar keragaman genetik pohon tertinggal dan anaknya tidak mengalami penurunan yang tinggi.

Kata kunci: Keragaman genetik, *Shorea*, silvikultur, SSR

Abstract. Widyatmoko AYPBC. 2015. Genetic diversity of *Shorea smithiana* seedling in STREKplot, East Kalimantan based on SSR markers. Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon 1: 393-397. Several silvicultural techniques have been developed and applied in the context of sustainable management for forest production. One of the silviculture research plots is STREK Plot. STREK Plot is located in Labanan, Berau, East Kalimantan. This plot was established in 1989 in order to evaluate the dynamic growth of forest stands after logging. The aim of this research is evaluating the effect of logging techniques to the genetic diversity of seedlings of *Shorea smithiana*. Leaves of *S. smithiana* seedlings were collected from 4 blocks (2 blocks of *virgin forest*, *Reduced Impact Logging*/RIL > 50 cm dbh, and conventional logging > 50 cm dbh). A number of seedlings were varied between 3 and 24. Twenty-five alleles from three SSR primers those have been developed for *S. curtisii* were used for analyzing genetic diversity. Genetic diversity of each block was calculated using POPGENE 1.32 program. Genetic diversity of the four blocks was varied between 0.4762 and 0.5481. *Virgin forest* block has the highest genetic diversity (0.5481), however, the lowest genetic diversity belonged to RIL > 50 cm dbh (0.4762). In general, genetic diversity of seedlings was decreased $\pm 10\%$ after logging compared with *virgin forest*. The results of this research can give the Ministry of Forestry and other stakeholders input of several options of silvicultural techniques in order to minimize reducing the genetic diversity of remaining trees and its seedlings.

Keywords: Genetic diversity, *Shorea*, silviculture, SSR

PENDAHULUAN

Silvikultur adalah seni dan ilmu membangun dan memelihara hutan dengan menerapkan ilmu silvika untuk memperoleh manfaat optimal. Menurut PP Nomor 6 tahun 2007 tentang Tata Hutan dan Penyusunan Rencana Pengelolaan Hutan serta Pemanfaatan Hutan, sistem silvikultur adalah sistem budidaya hutan mulai dari memilih benih

atau bibit, menyemai, menanam, memelihara tanaman dan memanen. Menurut Pasaribu (2008), di dalam sistem silvikultur terdapat pengaturan mengenai kelas diameter atau kelas umur, riap kegiatan penanaman/pengayaan (*enrichment planting*), pemangkasan (*pruning*), penjarangan (*thinning*), siklus tebang, rotasi tebang serta informasi silvikultur jenis. Sedangkan menurut Nyland (2002), sistem silvikultur adalah rangkaian kegiatan berencana mengenai

pengelolaan hutan yang meliputi penebangan, peremajaan, pemeliharaan tegakan hutan untuk menjamin kelestarian produksi atau hasil hutan lainnya. Oleh karenanya, berdasarkan beberapa definisi sistem silvikultur, terkandung tiga komponen utama yaitu permudaan (*regeneration*), pemeliharaan (*tending*), dan pemanenan (*harvesting/removing*).

Sejak awal diterapkannya sistem silvikultur di Indonesia, telah banyak sistem yang dikembangkan dengan tujuan untuk pengelolaan secara lestari. Beberapa sistem silvikultur yang diterapkan di Indonesia adalah TPI, TPTI, Bina Pilih, TPTJ dan TPTII. Saat ini, salah satu sistem silvikultur yang dikembangkan adalah silvikultur intensif (SILIN), yaitu teknik silvikultur yang berusaha untuk memadukan 3 elemen utama silvikultur, yaitu: spesies target yang dimuliakan, manipulasi lingkungan dan pengendalian hama terpadu (Soekotjo 2009).

Plot penelitian *Silvicultural Techniques for the Regeneration Over Forest in East Kalimantan* (Plot STREK) merupakan salah satu plot penelitian sistem silvikultur yang dibangun pada tahun 1989. Tujuan utama dari pembangunan Plot STREK adalah untuk memberikan informasi yang lebih sempurna sehingga kegiatan pemanenan pertama dan pemanenan berikutnya pada kawasan hutan hujan tropika dapat direncanakan dengan baik untuk menjamin bahwa hutan yang ada akan tetap mampu menjaga fungsi-fungsi ekosistemnya yang berharga bagi kepentingan pemenuhan kebutuhan kayu untuk produksi, perlindungan daerah-daerah tangkapan, konservasi keanekaragaman hayati dan fungsi-fungsi sosial (Tyrei 1999). Terdapat 2 perlakuan penjarangan dan 3 perlakuan penebangan, termasuk plot perlakuan kontrol dalam jumlah memadai yang tidak dilakukan penebangan, yang dilakukan di Plot STREK.

Penanda mikrosatelit atau SSR (*simple sequence repeat*) merupakan salah satu penanda DNA yang digunakan untuk menganalisis keragaman genetik tanaman. Kelebihan dari penanda mikrosatelit adalah bersifat ko-dominan, banyak dijumpai di hampir semua organisme yang mempunyai inti sel sejati dan mempunyai tingkat keragaman genetik yang tinggi. Penanda mikrosatelit telah banyak digunakan untuk analisis keragaman genetik beberapa jenis tanaman, seperti kelapa (Perera et al. 2000), gandum (Huang et al. 2002), jati (Dirmavena 2007), dan *Pinus merkusii* (Diputra 2013).

Pengaruh dari penerapan sistem silvikultur terhadap keragaman genetik pohon tertinggal, khususnya anakan dari pohon-pohon tertinggal, hingga saat ini belum banyak dilaporkan. Pengaruh penerapan sistem silvikultur terhadap keragaman genetik telah dilaporkan pada jenis Douglas-fir (Shimizu dan Adams 1992) dan di Eastern Hemlock Forest, USA (Hawley et al. 2005). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh sistem penebangan yang dilakukan di Plot STREK terhadap keragaman genetik anakan *Shorea smithiana* menggunakan penanda mikrosatelit.

BAHAN DAN METODE

Bahan penelitian diambil dari empat plot silvikultur yang terdapat di PLOT STREK. Keempat plot tersebut terletak pada RKL 4 dengan perlakuan penebangan dari November 1991-Maret 1992. Data dari masing-masing blok beserta jumlah sampel anaknya disajikan pada Tabel 1.

Sistem silvikultur yang dilakukan pada masing-masing plot dijelaskan sebagai berikut (Tyrei 1999): (i) *Virgin forest*: hutan primer dengan habitat alami. Hutan ini belum pernah ditebang. Diperlukan sebagai plot kontrol untuk RKL 4. (ii) *Reduced Impact Logging > 50 cm dbh*: inventarisasi tegakan pohon dan identifikasi spesies dilakukan sebelum dilakukan penebangan. Seluruh pohon dengan diameter dbh > 50 cm ditebang dan dikeluarkan dengan suatu prosedur yang dapat meminimalkan kerusakan terhadap tegakan tinggal, jalan sarad disesuaikan dengan topografi dan dilakukan penebangan dengan penetapan arah rebah dengan sudut rebah kurang dari 45 % terhadap arah penjarangan. (iii) *Penebangan konvensional > 50 cm*: dilakukan penebangan dengan cara-cara yang biasa dilaksanakan yang meliputi kegiatan inventarisasi tegakan dan identifikasi spesies (jenis komersil) sebelum penebangan. Pohon-pohon yang akan ditebang dipetakan tanpa mencantumkan keadaan topografinya. Jalan sarad dirancang berdasarkan pengalaman; akses yang mudah terhadap pohon merupakan pedoman prinsipil yang dipergunakan. Penebangan pohon dilaksanakan dengan cara yang paling memudahkan bagi tenaga penebang dengan mempertimbangkan proses penjarangan yang sebaik mungkin.

Total genomik DNA diekstraksi dari 50 mg daun yang telah dihaluskan dengan mesin ekstraksi (*beat beader*) menggunakan metode CTAB (*Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide*) yang dikembangkan oleh Shiraiishi dan Watanabe (1995). Penanda mikrosatelit yang digunakan adalah primer SSR yang dikembangkan untuk *Shorea curtisii*, yaitu Shc-02, Shc-07 dan Shc-09 (Ujino et al. 1998). Sekuen ketiga primer tersebut disajikan pada Tabel 2.

Reaksi PCR dilakukan dengan jumlah volume 10 μ L, yang terdiri dari 10 ng/10 μ L DNA, 0.125 μ M dari masing-masing primer, 1 mM MgCl₂, dan 5 μ L/10 μ L AmpliTaq Gold® 360 PCR Master Mix (Life Technologies). Proses PCR diawali dengan denaturasi selama 120 detik pada suhu 94°C, diikuti dengan 10 siklus amplifikasi. Kondisi dari amplifikasi adalah sebagai berikut: denaturasi pada suhu 94°C selama 30 detik, penempelan primer (*annealing*) mengikuti protokol touchdown (suhu 65-55°C) selama 30 detik, dan pemanjangan (*extension*) pada suhu 72°C selama 90 detik. Kemudian diikuti 25 siklus reaksi yang terdiri dari 94°C selama 30 detik (denaturasi), 55°C selama 30 detik (penempelan primer), dan pemanjangan 72°C selama 90 detik (pemanjangan). Siklus PCR diakhiri dengan pemanjangan selama 7 menit pada suhu 72°C. Reaksi PCR dilakukan pada mesin *thermal cycler* GeneAmp PCR System 9700 Applied Biosystem. Kegiatan elektroforesis dan deteksi fragmen menggunakan mesin Gene Analyzer

ABI 3100 Avant (Applied Biosystem). Fragmen DNA dianalisis menggunakan Genemapper (Applied Biosystem)

Tabel 2. Sekuen primer dan motif ulangan mikrosatelit pada *S. curtisii* (Ujino et al. 1998)

Nama lokus	Sekuen basa (5'-3')	Motif ulangan	T.ann (°C)	N _A
Shc-02	CACGC TTCC CAATC TG TCAAGA GCAGA ATCCA G	(CT) ₂ CA(CT) ₅	54	2
Shc-07	ATGTC CATGT TTGAG TG CATGG ACATA AGTGG AG	(CT) ₈ (CA(CT) ₅ CACCC(CTCA) ₃ CT(CA) ₁₀	54	11
Shc-09	TTTCT GTATC CGTGT GTTG GCGATT AAGCG GACCT CAG	(CT) ₁₂	54	9

Keterangan: T.ann: suhu penempelan primer, N_A: jumlah alel yang terdeteksi pada *S. curtisii*

Tabel 1. Plot penebangan pengambilan sampel anakan *S. smithiana*

Blok	Sistem silvikultur	N
R4P3C9	Reduced impact logging > 50 cm dbh	3
R4P4C9	Virgin Forest (kontrol)	15
R4P9C9	pembalakan konvensional > 50 cm dbh	24
R4P10C9	Virgin Forest (kontrol)	4

Keterangan: N: jumlah sampel

Tabel 3. Ukuran alel mikrosatelit (bp) pada *S. curtisii* (Ujino et al. 1998) dan anakan *S. smithiana*

Lokus	<i>S. curtisii</i>	<i>S. smithiana</i>
Shc-02	149	135
Shc-07	169	138, 147, 151, 155, 166, 172, 174, 185, 187, 189, 197, 201, 203, 205, 207, 213
Shc-09	197	179, 182, 184, 188, 191, 199

Tabel 4. Jumlah alel, genotipe dan keragaman genetik masing-masing plot

Blok	N	Shc-02		Shc-07		Shc-09		H _E
		Alel	Gen	Alel	Gen	Alel	Gen	
Semua	46	1	1	15	24	6	10	-
R4P3C9	3	1	1	2	2	4	3	0,5229
R4P4C9	15	1	1	9	9	6	8	0,5481
R4P9C9	24	1	1	9	15	4	7	0,4762
R4P10C9	4	1	1	5	3	3	4	0,4886

Keterangan: Gen = genotipe

Parameter keragaman genetik per lokus yang digunakan dalam penelitian ini adalah jumlah alel yang terdeteksi pada masing-masing primer, jumlah genotipe dan heterosigositas harapan (H_E). Parameter tersebut dihitung menggunakan program POPGENE 1.32 (Yeh et al. 2000).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Mikrosatelit alel pada *Shoreasmithiana*

Dua puluh tiga alel terdeteksi pada anakan *S. smithiana* untuk 3 primer yang digunakan (Shc-2, Shc-7 dan Shc-9). Jumlah alel dari lokus Shc-2, Shc-7 dan Shc-9 adalah 1, 16 dan 6. Detail dari alel yang diperoleh dari masing-masing primer disajikan pada Tabel 3. Untuk lokus Shc-02, hanya terdeteksi 1 alel, yaitu 135, untuk keseluruhan sampel anakan yang digunakan (46 sampel).

Keragaman genetik anakan pada masing-masing plot

Jumlah alel dari masing-masing blok untuk masing-masing lokus dan genotipe anakan, serta keragaman genetiknya dapat dilihat pada Tabel 4. Jumlah alel untuk lokus Shc-02 hanya 1, sehingga genotipe yang ditemukan hanya 1, yaitu homosigot alel 135. Untuk lokus Shc-07, jumlah alel bervariasi antara 2-9 dengan jumlah genotipe 2-15. Plot R4P9C9 mempunyai jumlah alel dan genotipe terbanyak. Sedangkan untuk lokus Shc-09, jumlah alel bervariasi antara 3-6 dengan jumlah genotipe 3-8. Plot R4P4C9 menunjukkan jumlah alel dan genotipe yang lebih banyak dibandingkan plot lainnya.

Keragaman genetik dari keempat plot bervariasi antara 0,4762 sampai dengan 0,5481. Plot R4P9C9 memiliki keragaman yang tertinggi (0,5481), disusul oleh plot R4P3C9 (0,5229). Plot R4P9C9 memiliki keragaman yang terendah (0,4762).

Pembahasan

Ketiga primer yang digunakan pada penelitian ini, yang berasal dari *S. curtisii*, dapat teramplifikasi dengan sangat baik. Salah satu keuntungan dari penggunaan penanda mikrosatelit adalah menyeleksi dari primer mikrosatelit yang telah dikembangkan untuk jenis-jenis lain yang berkerabat. Ujino et al. (1998) membuktikan bahwa 5 primer yang dikembangkan untuk *S. curtisii* hampir semuanya teramplifikasi dengan baik pada 30 jenis Dipterocarpaceae. Nurtjahjaningsih et al. (2012) juga melaporkan bahwa 4 primer yang digunakan, 100% teramplifikasi pada empat jenis *Shorea* penghasil tengkawang (*S. gysbertsiana*, *S. macrophylla*, *S. stenoptera*

dan *S. pinanga*). Abasolo et al. (2009) dan Javed et al. (2014) juga melaporkan bahwa primer mikrosatelit yang dikembangkan pada *S. curtisii* dapat digunakan untuk jenis *Parashorea malaanonan* dan *S. platyclados*.

Jumlah alel yang dideteksi pada masing-masing lokus untuk anakan *S. smithiana* di Plot STREK berbeda dengan yang dideteksi pada jenis-jenis Dipterocarpaceae lainnya. Jumlah alel yang dideteksi untuk lokus Shc-02, Shc-07 dan Shc-09, masing-masing adalah 1, 16 dan 6. Untuk Shc-02, jumlah alelnya lebih banyak daripada yang dideteksi pada *S. curtisii* (Ujino et al. 1998) dan 4 jenis Shorea penghasil tengkawang (Nurtjahjaningsih et al. 2012). Tetapi lebih sedikit dibandingkan dari *S. platyclados* (Javed et al. 2014). Untuk Shc-09, jumlah alel yang terdeteksi pada anakan *S. smithiana* lebih sedikit dibandingkan dengan *S. curtisii* (Ujino et al. 1998), *S. platyclados* (Javed et al. 2014) dan *S. gysberstiana* (Nurtjahjaningsih et al. 2012). Tetapi lebih banyak daripada *Parashorea malaanonan* (Abasolo et al. 2009), *S. macrophylla*, *S. pinanga* dan *S. stenoptera* (Nurtjahjaningsih et al. 2012). Hal tersebut menandakan bahwa lokus Shc-07 dan Shc-09 cukup tinggi variasinya untuk *S. smithiana*.

Keragaman genetik blok “*virgin forest*” atau kontrol di RKL 4 Plot STREK, masing-masing adalah 0,5481 (R4P4C9) dan 0,4886 (R4P10C9). Dibandingkan dengan blok lain yang dilakukan penebangan (R4P3C9 dan R4P9C9), keragaman blok kontrol relatif lebih tinggi. Keragaman R4P10C9 yang relatif rendah disebabkan karena hanya menggunakan 4 anakan yang diperoleh dari 1 pohon induk. Keragaman blok R4P3C9 (*Reduced impact logging* > 50 cm dbh) yang relatif tinggi, bahkan lebih tinggi dari blok kontrol R4P10C9, disebabkan karena sampel yang digunakan hanya 3 dan berasal dari pohon induk yang berbeda. Oleh karenanya, yang dapat dibandingkan dari sisi jumlah sampel yang digunakan adalah blok kontrol R4P4C9 dan plot pembalakan konvensional > 50 cm dbh (R4P9C9). Apabila kedua blok tersebut dibandingkan, terjadi penurunan keragaman genetik sebesar 10%. Penurunan keragaman genetik ini yang kemungkinan besar disebabkan oleh dilakukannya penebangan. Jumlah individu pohon yang ditebang berdasarkan kriteria pembalakan konvensional > 50 cm dbh adalah sekitar 10-20%.

Beberapa penelitian juga telah melaporkan pengaruh penebangan atau sistem silvikultur terhadap keragaman genetik. Shimizu dan Adams (1993) melaporkan pengaruh 2 sistem penebangan terhadap keragaman genetik Douglas-fir, yaitu penebangan keseluruhan (*clear cut*) untuk sebagian lokasi dan tebangan seleksi. Untuk *clear cut*, jumlah pohon yang ditebang sekitar 25%. Tetapi keragaman genetik (H_E) tidak berubah signifikan dibandingkan dengan plot kontrol (tanpa penebangan). Kemungkinan yang terjadi adalah terjadi perkawinan dengan individu plot lain yang berdekatan, jumlah pohon yang tersisa masih cukup banyak sehingga penurunan jumlah pohon dianggap tidak signifikan. Berbeda dengan penebangan seleksi, dengan menebang sekitar 18% dari pohon besar, ternyata perubahan keragaman genetik anakan cukup signifikan. Hawley et al. (2005) juga melaporkan pengaruh penebangan pada *Tsuga canadensis* (eastern

hemlock). Dengan melakukan *selection cut*, yaitu menebangi pohon dengan fenotipe jelek, jumlah alel jarang (*rare alel*) dan potensial alel berkurang. Berbeda dengan penebangan pohon dengan diameter minimal 24 cm, jumlah alel losi polimorfiknya lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol (tanpa penebangan). Hal ini menunjukkan bahwa alel jarang lebih banyak terdapat pada pohon dengan fenotipe jelek. Alel jarang pada tanaman dapat menambah kemampuan untuk beradaptasi pada lingkungan.

Keragaman genetik dari anakan dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu keragaman induk/pohon dewasa, jarak antar pohon induk (termasuk dengan individu lain di luar blok) dan sistem perkawinan yang terjadi. Nurtjahjaningsih (2008) menyatakan bahwa penyebaran serbuk sari sangat mempengaruhi keragaman dari anakan yang dihasilkan. Komposisi serbuk sari yang berkontribusi pada sistem perkawinan yang terjadi pada satu musim akan mempengaruhi keragaman anakan yang dihasilkan. Selain itu, ketersediaan dan keseimbangan antara jumlah bunga betina dan bunga jantan dapat menjadi penyebab dalam variasi pola perkawinan yang terjadi.

Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa sistem silvikultur yang dilakukan mempengaruhi keragaman genetik dari anakan *S. smithiana*. Hal ini disebabkan karena jumlah individu pohon induk pada plot penebangan semakin berkurang, sehingga dapat menurunkan keragaman genetik dari pohon penyusun plot dan mempengaruhi ketersediaan jumlah bunga jantan dan bunga betina. Penelitian keragaman genetik anakan dan pohon tertinggal pada plot penebangan (sistem silvikultur) perlu dilakukan untuk mengetahui pengaruh sistem silvikultur yang dilakukan terhadap keragaman genetik. Tentunya jumlah pohon yang tersedia sebelum dilakukan penebangan juga akan mempengaruhi keragaman genetik setelah dilakukan penebangan.

Sistem silvikultur atau penebangan yang dilakukan pada hutan alam dapat mempengaruhi keragaman anakan pohon tertinggal. Penelitian ini menunjukkan berkurangnya keragaman genetik anakan *S. smithiana* sebesar 10% akibat penebangan pohon dengan diameter di atas 50 cm dbh. Untuk mempertahankan keragaman genetik pohon tertinggal dan anakan yang dihasilkan, perlu diperhatikan metode penebangan yang akan dilakukan disamping faktor lain seperti jumlah dari pohon yang ada sebelum dilakukan penebangan. Penelitian ini juga menghasilkan penanda mikrosatelit yang dapat digunakan untuk penelitian genetika *S. smithiana* lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Abasolo MA, Fernando ES, BorromeoTH, Hautea DM. 2009. Cross-species amplification of *Shorea* microsatellite DNA markers in *Parashorea malaanonan* (Dipterocarpaceae). *Philippine J Sci* 138: 23-28.
- Diputra IMMM. 2013. Keragaman genetik *Pinus merkusii* Jungh. et de Vriese Strain Tapanuli berdasarkan penanda mikrosatelit. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Dirmavena B. 2007. Keragaman dan Struktur Genetik Populasi Jati Sulawesi Tenggara Berdasarkan Marka Mikrosatelit. Institut Pertanian Bogor, Bogor.

- Hawley GJ, Schaberg PG, DeHayes J, Brissette JC. 2005. Silviculture alters the genetic structure of an eastern hemlock forest in Maine, USA. *Can J For Res* 35: 143-150.
- Huang XQ, Borner A, Roder MS, Ganai MW. 2002. Assessing genetic diversity of wheat (*Triticum aestivum* L.) germplasm using microsatellite markers. *Theor Appl Genet* 105: 699-707.
- Javed AM, Cannon C_HH, Wickneswari R. 2014. Microsatellite DNA markers in *Shorea platyclados* (Dipterocarpaceae): Genetic diversity, size homoplasy and mother trees. *J For Sci* 60: 18-27.
- Nurtjahjaningsih ILG. 2008. Penyebaran serbuk sari dan keragaman genetik biji yang dihasilkan kebun benih *Pinus merkusii* di Jember. *J Pemuliaan Tanaman Hutan* 2: 263-276.
- Nurtjahjaningsih ILG, Widyatmoko AYPBC, Sulistyawati P, Rimbawanto A. 2012. Screening penanda mikrosatelit *Shorea curtisii* terhadap jenis-jenis *Shorea* penghasil tengkawang. *J Pemuliaan Tanaman Hutan* 6: 49-56.
- Nyland RD. 2002. *Silviculture: Concepts and Applications*. McGraw-Hill Co., New York.
- Pasaribu HS. 2008. Kebijakan penerapan lebih dari satu sistem silvikultur pada areal IUPHHK di Indonesia. *Prosiding Lokakarya Nasional: Penerapan Multisistem Silvikultur pada Pengusahaan Hutan Produksi dalam Rangka Peningkatan Produktivitas dan Pemantapan Kawasan Hutan*. IPB International Convention Center, Bogor, 23 Agustus 2008. Kerjasama antara Institut Pertanian Bogor dengan Direktorat Jenderal Bina Produksi Kehutanan, Departemen Kehutanan. Bogor, Jakarta.
- Perera L, Russell JR, Provan J, Powell W. 2000. Use of microsatellite DNA markers to investigate the level of genetic diversity and population genetic structure of coconut (*Cocos nucifera* L.). *Genome* 43: 15-21.
- Shimizu JY, Adams WT. 1993. The Effect of Alternative Silvicultural Systems on Genetic Diversity in Douglas-fir. *Proc. 22nd Southern Forest Tree Improvement Conference*, Atlanta, Georgia.
- Shiraishi S, Watanabe A. 1995. Identification of chloroplast genome between *Pinus densiflora* Sieb. et Zucc. and *P. thunbergii* Parl. based on the polymorphism in *rbcL* gene. *J Jpn For Soc* 77: 429-436.
- Soekotjo. 2009. *Teknik Silvikultur Intensif*. Orasi Penerima Anugerah Hamengku Buwono IX, Dies Natalis ke-60 Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Tyre G. 1999. *Sepuluh Tahun Riset Hutan Hujan Tropika Dataran Rendah di Labanan, Kalimantan Timur, Plot Penelitian STREK*. Departemen Kehutanan dan Perkebunan, Jakarta.