

KERAGAMAN GENOTIPE CABAI MERAH DENGAN POLA PITA ISOENZIM

Noor Farid, Agus Sarjito, dan Agus Riyanto

Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Jenderal Soedirman Purwokerto

Email: noorfariid879@gmail.com

Abstrak

Varietas unggul merupakan salah satu cara yang efektif untuk peningkatan produksi cabai. Genotipe hasil persilangan cabai yang berpotensi unggul telah didapatkan. Keragaman genetik suatu individu dapat diidentifikasi dengan analisis isoenzim. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan keragaman genetik dan hubungan kekerabatan antar tetua dengan genotipe cabai merah berdasarkan analisis isoenzim. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pola pita isoenzim dengan empat sistem enzim (ACP, EST, MDH dan PER) terdapat keragaman genotipe cabai yang dicoba. Analisis kekerabatan 12 genotipe cabai merah pada tingkat keragaman 19 % terdapat 3 kelompok. Adapun tiap kelompok tersebut adalah : kelompok pertama (RanduxJatilaba, X4271xG6321, Randu x G6321, dan G3257xG6321), kelompok kedua (Gada), kelompok tiga (G6321, Jatilaba, Randu, G9854xRandu, G9854, X4271, dan G3257). Genotipe hasil persilangan antara Randu x Jatilaba mempunyai kemiripan dengan X4271xG6321.

Kata kunci : *isoenzim, genotipe, cabai merah*

PENDAHULUAN

Cabai digunakan sebagai bumbu masak dan bahan baku industri. Rasa cabai di Indonesia disukai karena rasa pedas dan aroma khas. Kandungan gizi cabai merah segar per 100 gram adalah kalori 31,0 kal, protein 1,0 g, karbohidrat 7,3 g, vitamin A, dan kapsaikin 0,1-1,5% serta kandungan gizi lainnya. Cabai dapat juga bermanfaat bagi kesehatan. Mengingat kandungan senyawa khas yaitu kapsaikin ($C_{18}H_{27}NO_3$) pada buah cabai dapat melancarkan sirkulasi darah. (Wiryanta, 2002).

Cabai (*Capsicum* sp.) merupakan komoditas sayuran semusim yang memiliki harga yang berfluktuasi. Fluktuasi harga cabai tergantung oleh permintaan dan persediaan/panen. Permintaan cabai terus meningkat sesuai dengan pertumbuhan jumlah penduduk Indonesia. Produksi cabai di Indonesia dari tahun 2010 sampai 2012 ada kecenderungan menurun dari 122.755 t menjadi 120.275 t, tetapi tahun 2013 produksi cabai meningkat menjadi 124.110 t. Hal ini karena adanya peningkatan produktivitas dari 6,58 t/ha pada tahun 2010, menjadi 8,16 t/ha tahun 2013 (BPS, 2014).

Peningkatan produksi cabai dapat dilakukan secara ekstensifikasi (perluasan areal pertanian) maupun intensifikasi (salah satunya dengan penggunaan varietas unggul). Peningkatan produksi secara ekstensifikasi relatif sulit dilakukan, mengingat terbatasnya lahan pertanian. Upaya untuk meningkatkan produksi cabai yang efektif adalah dengan perakitan varietas unggul. Langkah awal dari perakitan varietas unggul cabai adalah pemilihan tetua yang memiliki karakter yang diinginkan. Langkah selanjutnya dilakukan persilangan antara dua atau lebih tetua cabai yang berbeda komposisi genetiknya. Menurut Nasir (2001), persilangan diartikan sebagai upaya untuk mendapatkan kombinasi genotipe baru untuk diseleksi lebih lanjut.

Identifikasi genotipe cabai dapat dilakukan dengan morfologi, genetik, isoenzim, dan DNA (Szczyplinski *et al.*, 2015; Kumar *et al.*, 2014; Chaiyawat *et al.*, 2008; Ahn *et al.*, 2014). Salah satu cara identifikasi tersebut dengan isoenzim. Adapun sistem enzim yang sering digunakan dalam isoenzym adalah PER (peroksidase), EST (esterase), MDH (malat dehidrogenase), ACP (asam fosfatase). Persilangan dengan kekerabatan yang jauh diperoleh perbaikan genetik yang besar. Mengingat hal tersebut maka identifikasi tetua yang kekerabatan jauh perlu dilakukan. Cara ini mudah, simple dan cepat, sehingga praktisi digunakan dalam identifikasi tetua.

Tujuan penelitian ini untuk :

1. Mengetahui keragaman genetik antar tetua dan genotipe cabai berdasarkan analisis isoenzim.
2. Mendapatkan perbedaan antara genotipe cabai merah.

METODA PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan di rumah plastik, kebun percobaan Pemuliaan dan Bioteknologi Tanaman Fakultas Pertanian, Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto. Analisis isoenzim dilaksanakan di Laboratorium Biologi Molekular dan Seluler, Pusat Bioteknologi dan Ilmu Hayati IPB, Bogor. Penelitian dimulai pada bulan April sampai Agustus 2013.

Bahan dan Alat

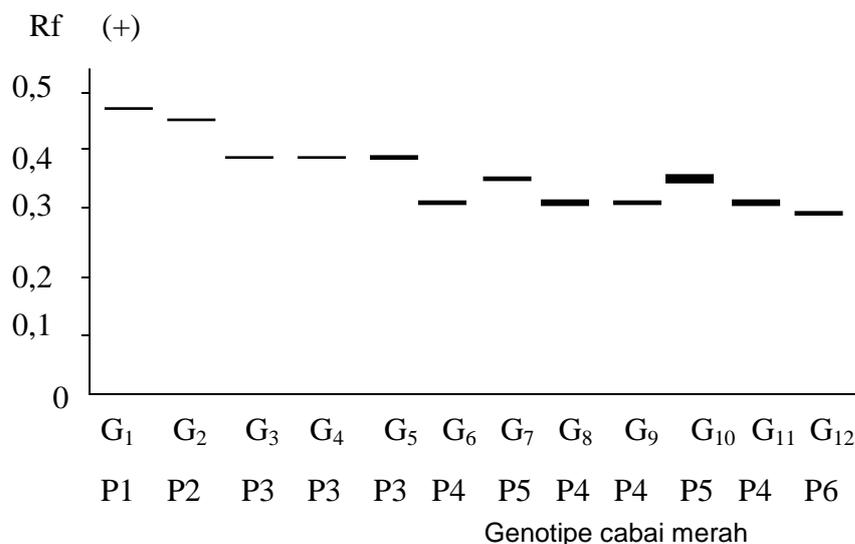
Benih 12 genotipe cabai (G): G₁ (G3257), G₂ (G9854), G₃ (G6357), G₄ (X4271), G₅ (Jatilaba), G₆ (Randu), G₇ (G9854xRandu), G₈ (RanduxJatilaba), G₉ (X4271xG6321), G₁₀ (Randu x G6321), G₁₁ (G3257xG6321), dan G₁₂ (Gada). Penanaman dilakukan di polibag dalam rumah plastik dengan tanah sebanyak 10 kg, diberikan pupuk organik dan pupuk NPK. Perlindungan terhadap hama diberikan Furadan 3 G dan Decis sesuai anjuran. Bahan yang digunakan adalah daun tanaman cabai sebanyak 12 genotipe, larutan buffer Tris, serta pewarna esterase (EST), malat dehidrogenase (MDH), asam fosfatase (ACP), peroksidase (PER), dan pewarna I2KI 0,2 %. Peralatan yang digunakan adalah kaca preparat, cawan petri, gelas piala, pisau, pinset, pipet, elektroforesis, *high voltage power supply*, penangas air, ruang pendingin, alat pemotong gel, nampan tempat pewarnaan, penggaris millimeter dan penggaris micrometer. Bahan untuk isoenzim adalah : pati kentang; L-asam askorbat, L-sistein, Triton-X-100, PVP-40 dan Na₂HPO₄·2H₂O (bahan buffer pengeksrak); L-histidin monohidrat (bahan buffer gel); Asam sitrat monohidrat, Tris hidroksimetil aminometan (bahan buffer elektroda); Sodium fosfat, 1-naftil asetat, 2-naftil asetat, aseton, fast blue RR salt (bahan pewarna esterase); natrium asetat, CaCl₂, H₂O₂, 3-amino-9 etilkarbasol (bahan pewarna peroksidase); Tris-HCl, NAD Malic acid, NBT atau MTT, PMS (bahan pewarna malat dehidrogenase); buffer natrium asetat, Na- α -naftil asam fosfat, MgCl₂, *fast garnet* GBG salt (bahan pewarna asam fosfatase); bromfenol biru (pewarna penanda migrasi pita).

Deteksi pola pita isoenzim dengan analisis isoenzim hasil elektroforesis. Enzim yang digunakan Asam fosfatase (ACP), Esterase (EST), Malat dehidrogenase (MDH), dan Peroksidase (PER). Data kuantitatif diperoleh dengan menghitung nilai mobilitas relatifnya. Pola pita yang terbentuk digambar dalam bentuk zimogram dan diukur jarak migrasi atau mobilitas relatif pitanya (Rf). Nilai Rf diperoleh dari perhitungan jarak migrasi pita dibagi panjang gel. Hubungan kekerabatan diperoleh dari pola pita yang dihasilkan dan dibuat data dengan nilai 1 pada pita yang muncul dan nilai 0 pada pita yang tidak muncul. Analisis pengelompokan dengan analisis *Cluster Hierarchical* metode *Between Groups Linkage* dengan sistem *Binary Dice* Program SPSS 13.0.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil analisis isoenzim menunjukkan bahwa empat enzim yang digunakan mempunyai keragaman pola pita. Jumlah pola pita yang tampak berkisar 5-12 pola. Jumlah pita yang dari 12 genotipe cabai yang dicoba beragam, berkisar 1-5 pita. Banyaknya pola pita yang terbentuk menunjukkan keragaman sifat antar genotipe yang dicoba (Kumasr *et al*, 2013; Sugiarti, 2002).

Gambar 1 menunjukkan bahwa aktivitas enzim asam fosfatase (ACP) bergerak ke arah anoda (+). Hal ini menunjukkan bahwa enzim ACP tersusun dari asam amino negatif. Asam amino saat elektroforesis akan bergerak ke arah kutub yang berlawanan dengan muatannya (Salisbury dan Ross, 1993).



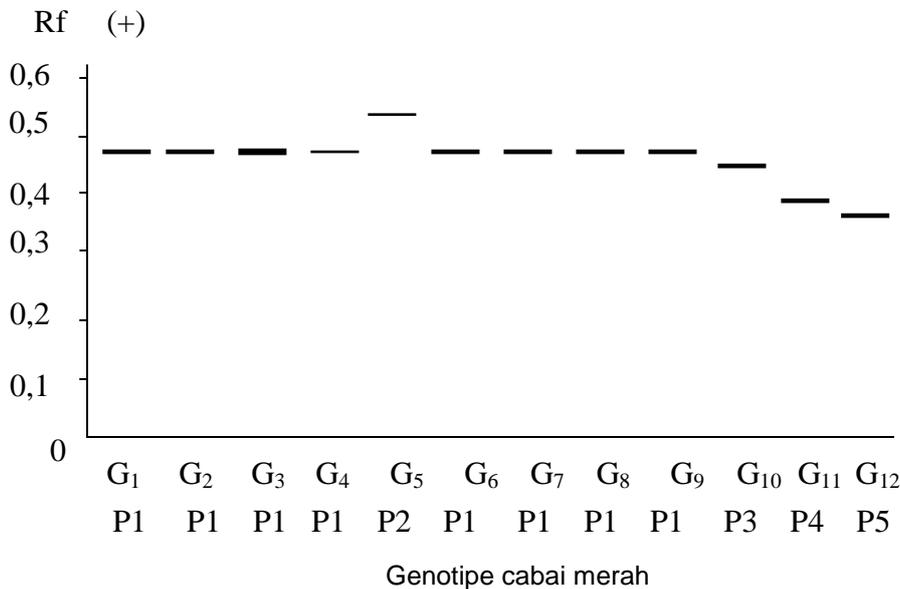
Keterangan : P₁-P₆ = Pola Pita Isoenzim

Gambar 1. Zimogram Asam fosfatase (ACP) pada 12 genotipe cabai

Hasil analisis enzim ACP dari 12 genotipe cabai hanya menghasilkan satu pita isoenzim dengan Rf berbeda. Menurut Weeden dan Wendel (1989), sistem enzim ACP dapat menunjukkan jumlah pita berkisar 2 sampai 4 pita isoenzim. Pita-pita tersebut dikelompokkan menjadi 6 pola pita. Hasil pola pita merupakan kombinasi antara jumlah pita dan jarak migrasi (Kumar *et al.*, 2014; Suketi, 1994). Pola pita tersebut merupakan hasil reaksi enzimatik dari substrat dengan enzim yang diamati (Ketty, 1994).

Daerah mobilitas enzim asam fosfatase (ACP) terletak pada Rf 0,29-0,48. Jarak mobilitasnya relatif pendek. Hal ini dapat diartikan bahwa ACP mempunyai bobot molekul enzim tinggi. Enzim dengan bobot molekul yang rendah akan mempunyai jarak mobilitas yang relatif panjang (Sugiyarta, 1988). Setiap sistem enzim dapat berkaitan dengan ketahanan tanaman terhadap cekaman biotik (Chaiyawat *et al.*, 2008).

Nilai Rf terkecil ACP dimiliki oleh G₁₂ sebesar 0,29 dan Rf terbesar bernilai 0,48 dimiliki oleh genotipe G₁. Jarak Rf lainnya bernilai 0,45 dimiliki genotipe G₂. Nilai Rf 0,35 ditempati oleh genotipe cabai hasil persilangan G₇ dan G₁₀. Pita-pita isoenzim yang nilai Rf sama berarti mengandung enzim dimana struktur, muatan listrik, ukuran serta berat molekul sama (Prasetyaningsih, 2002). Hal ini berarti genotipe G₇ dan G₁₀ mempunyai kandungan enzim ACP yang sama. Genotipe cabai merah G₃, G₄ dan G₅ (nilai Rf 0,39) kandungan enzimnya sama demikian pula kelompok genotipe cabai G₆, G₈, G₉ dan G₁₀ (nilai Rf 0,32). Pola pita 1, 2 dan 6 berturut-turut terdapat pada genotipe cabai G₁, G₂ dan G₁₂. Pola pita 5 dimiliki 2 genotipe yaitu G₇ dan G₁₀. Pola pita 3 terdapat pada G₃, G₄ dan G₅ sedangkan pola pita 4 terdapat pada genotipe cabai G₆, G₈, G₉, dan G₁₁. Genotipe yang mempunyai pola pita yang sama dapat diartikan sifat yang dimiliki sama (Handoko, 2005). Pita-pita yang terbentuk pada 12 genotipe cabai relatif tipis seperti pada G₁, G₂, G₃ dan G₄. Beberapa pita terlihat agak tebal seperti pada G₈, G₁₀ dan G₁₁. Pita isoenzim yang tipis menunjukkan bahwa aktivitas enzimnya rendah, sedangkan pita isoenzim yang tebal menunjukkan aktivitas enzimnya yang tinggi (Prasetyaningsih, 2002).



Keterangan: P₁-P₅ = Pola Pita Isoenzim

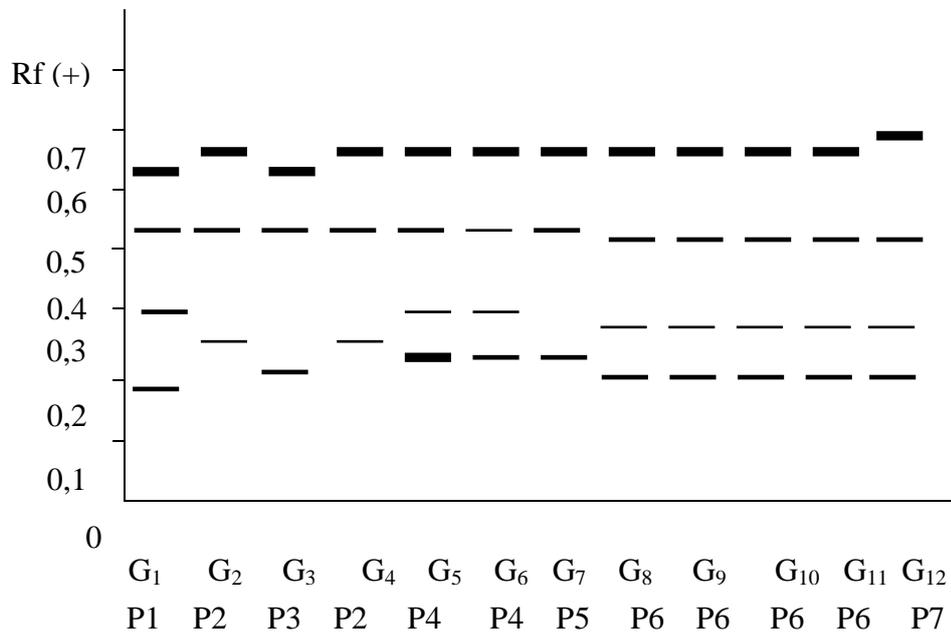
Gambar 2. Zimogram Esterase (EST) pada 12 genotipe cabai merah

Hasil analisis enzim Esterase (EST) menunjukkan semua pita menuju ke arah kutub positif (Gambar 2). Daerah mobilitas EST terletak antara Rf 0,36-0,52. Jarak mobilitasnya merupakan jarak paling pendek dibandingkan dengan sistem enzim lainnya. Hal ini tidak sesuai dengan pernyataan Sugiyarta (1988) bahwa esterase termasuk kelompok enzim dengan bobot molekul yang rendah sehingga jarak mobilitasnya relatif panjang.

Sistem enzim EST menunjukkan keragaman pita yang rendah. Jumlah pita yang muncul hanya satu pita isoenzim. Menurut Weeden dan Wendel (1989), sistem enzim esterase dapat menunjukkan jumlah pita berkisar 2-10 pita isoenzim. Pola pita yang dihasilkan sebanyak 5 pola. Ketebalan masing-masing pita relatif sama. Pita yang terbentuk agak tebal, beberapa pita relatif tipis. Penebalan pita berarti aktivitas isoenzim tersebut sangat tinggi. Namun penebalan pita tersebut dapat juga karena terbentuknya pita-pita yang letaknya berdekatan. Hal ini menyebabkan terlihat seolah-olah hanya satu buah pita yang tebal (Nina, 1995).

Genotipe cabai merah G₁ mempunyai kemiripan dengan G₂, G₃, G₄, G₆, G₇, G₈ dan G₉, termasuk pola pita 1. Pita-pita yang tergolong pola pita 1 mempunyai nilai Rf terbesar yaitu 0,48. Pola pita 2, 3, 4 dan 5 dimiliki masing-masing hanya 1 genotipe. Pola pita 2, 3, 4 dan 5 berturut-turut terdapat pada G₅, G₁₀, G₁₁ dan G₁₂. Genotipe yang mempunyai pola pita yang berbeda mempunyai arti sifat yang berbeda. Nilai Rf dari masing-masing pola pita berturut-turut yaitu 0,52; 0,45; 0,39 dan 0,36. Nilai Rf yang terkecil dimiliki oleh G₁₂. Rf kecil berarti pergerakan pita pada gel pendek, berarti bobot molekulnya berat. Pergerakan pita berkaitan dengan bobot molekul, semakin rendah bobot molekul maka semakin panjang mobilitas pitanya dan sebaliknya.

Hasil analisis enzim MDH menunjukkan bahwa daerah mobilitas MDH terletak Rf 0,24-0,73 (Gambar 3). Aktivitas enzim MDH bergerak ke arah anoda (+). Jarak mobilitas MDH relatif panjang dibandingkan ACP dan EST. Jumlah pita yang muncul berkisar antara 3-4 pita isoenzim. Menurut Weeden dan Wendel (1989), sistem enzim MDH dapat menunjukkan jumlah pita sebanyak 3 pita isoenzim. Pola pita yang terbentuk dikelompokkan menjadi 7 pola pita. Pengelompokkan pola pita tersebut berdasarkan kesamaan jumlah pita dan jarak migrasinya (Sugiarti, 2002; Kumar *et al*, 2013).



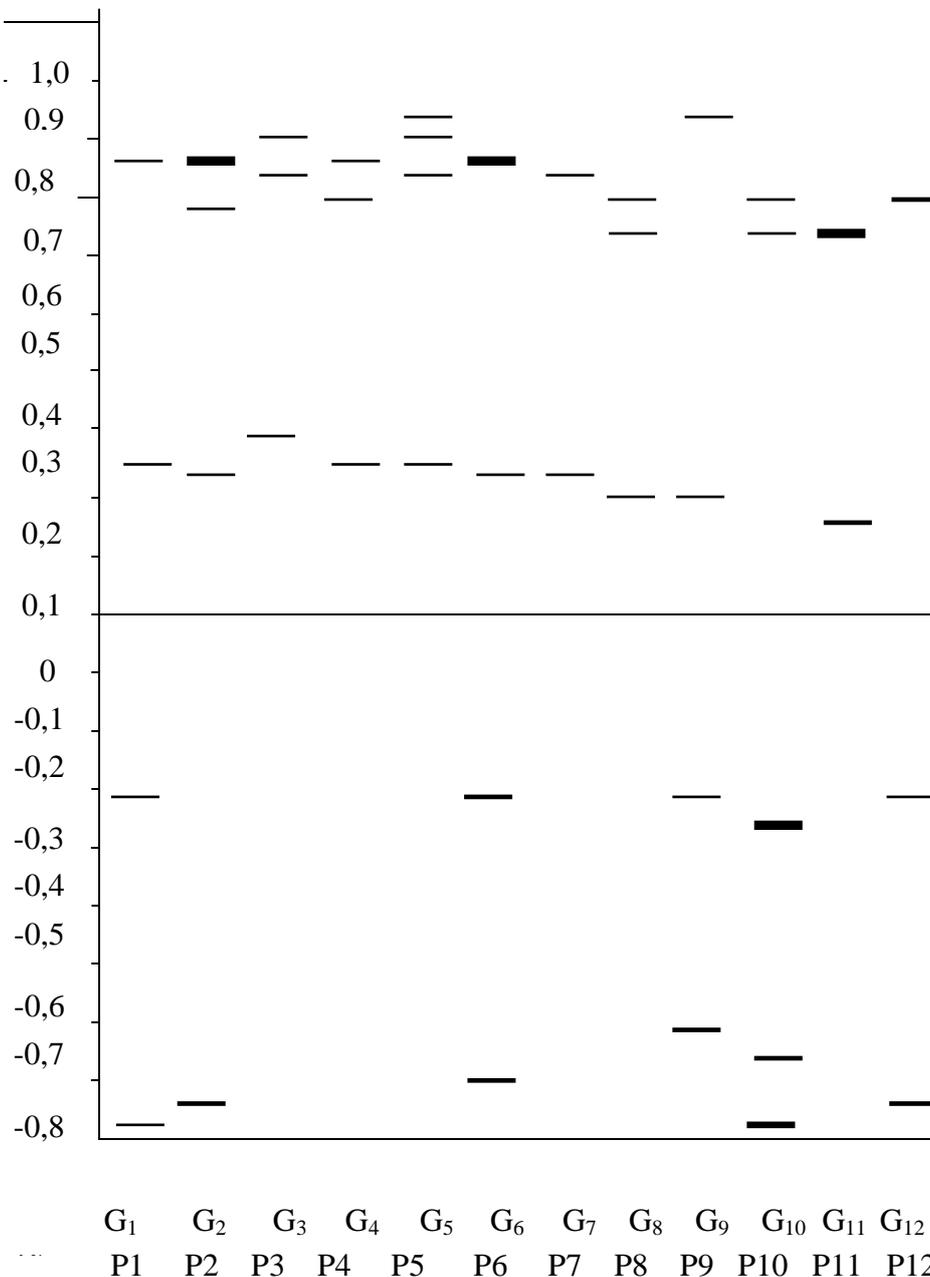
Keterangan: P₁-P₇ = Pola Pita Isoenzim

Gambar 3. Zimogram Malat dehidrogenase (MDH) pada 12 genotipe cabai merah

Pola pita 1 memiliki 4 pita isoenzim dengan ketebalan yang agak sama. Pola pita ini hanya memiliki 1 genotipe cabai yaitu G₁. Genotipe G₂ memiliki kesamaan pola pita dengan genotipe G₄, termasuk pola pita 2. Kesamaan tersebut baik dari segi jumlah dan jarak migrasi pita serta ketebalan pita. Pola pita 3 hanya memiliki 1 genotipe yaitu G₃ yang terdiri 3 dari pita isoenzim.

Genotipe Jatilaba mempunyai kesamaan dengan G₆, memiliki 4 pita isoenzim dan termasuk pola pita 4. Pola pita 6 dan 7 terdiri hanya 1 genotipe, berturut-turut yaitu G₈ dan G₁₂. Genotipe-genotipe yang tidak mempunyai kesamaan pola pita isoenzim mempunyai sifat yang berbeda. Pola pita 5 terdiri 4 genotipe (G₇, G₈, G₁₀ dan G₁₁) yang sama jumlah, ketebalan dan jarak migrasi pitanya. Hal ini berarti genotipe G₇, G₈, G₁₀ dan G₁₁ mempunyai kesamaan pada enzim ini.

Rf (+)



Gambar 4. Zimogram Peroksidase (PER) pada 12 genotipe cabai merah

Pita-pita yang terbentuk hasil analisis enzim PER bergerak ke arah anoda (+) dan juga ke arah katoda (-) (Gambar 4). Asam amino negatif yang menyusun PER lebih banyak dibandingkan asam amino positif. Hal ini ditunjukkan dengan jumlah pita yang bergerak ke arah anoda lebih banyak dibandingkan yang bergerak ke arah katoda (-).

Aktivitas PER terletak pada daerah mobilitas antara Rf -0,80-0,92. Jarak mobilitas PER paling panjang dibandingkan jarak mobilitas enzim lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa PER termasuk kelompok enzim dengan berat molekul rendah sehingga pergerakan pita di gel relatif panjang. Jumlah pita yang muncul pada hasil analisis PER berkisar antara 2-5 pita isoenzim. Menurut Rahmiati (2005), banyaknya pita yang muncul menunjukkan bahwa enzim PER lebih aktif dari isoenzim lainnya. Sistem enzim PER mempunyai aktivitas tinggi sehingga mudah dianalisis dan membedakan genotipe (Malik dan Singh, 1980; Kumar *et al.*, 2014).

Hasil analisis PER menunjukkan keragaman berdasarkan pola pita. Pola pita yang terbentuk dikelompokkan menjadi 12 pola pita. Menurut Mansyah *et al.* (1999), adanya variasi (polimorfisme) dari pola pita isoenzim yang dihasilkan menunjukkan bahwa genotipe-genotipe yang diuji mempunyai variabilitas genetik yang luas.

Pola pita 1, 2, 3, 4, 5 dan 6 berturut-turut yaitu G₁, G₂, G₃, G₄ dan G₅. Pola pita 7, 8, 9, 10, 11 dan 12 berturut-turut yaitu G₇, G₈, G₉, G₁₀, G₁₁ dan G₁₂. Pola pita terbanyak (5 pita isoenzim) dimiliki oleh genotipe cabai G₁₀ sedangkan pola pita yang paling sedikit (2 pola isoenzim) dimiliki oleh genotipe G₁₁. Berdasarkan pola pita isoenzim PER, genotipe-genotipe cabai yang diuji tersebut berbeda. Perbedaan pola pita ini adalah pengaruh dari perbedaan bobot muatan asam amino penyusun enzim genotipe-genotipe tersebut (Hadiati, 2003).

Tabel 1. Keragaman jumlah dan pola pita isoenzim pada 12 genotipe cabai

No	Isoenzim	Jumlah pita	Pola pita
1	Asam fosfatase (ACP)	1	6
2	Esterase (EST)	1	5
3	Malat dehidrogenase	3-5	7
4	Peroksidase (PER)	2-5	12

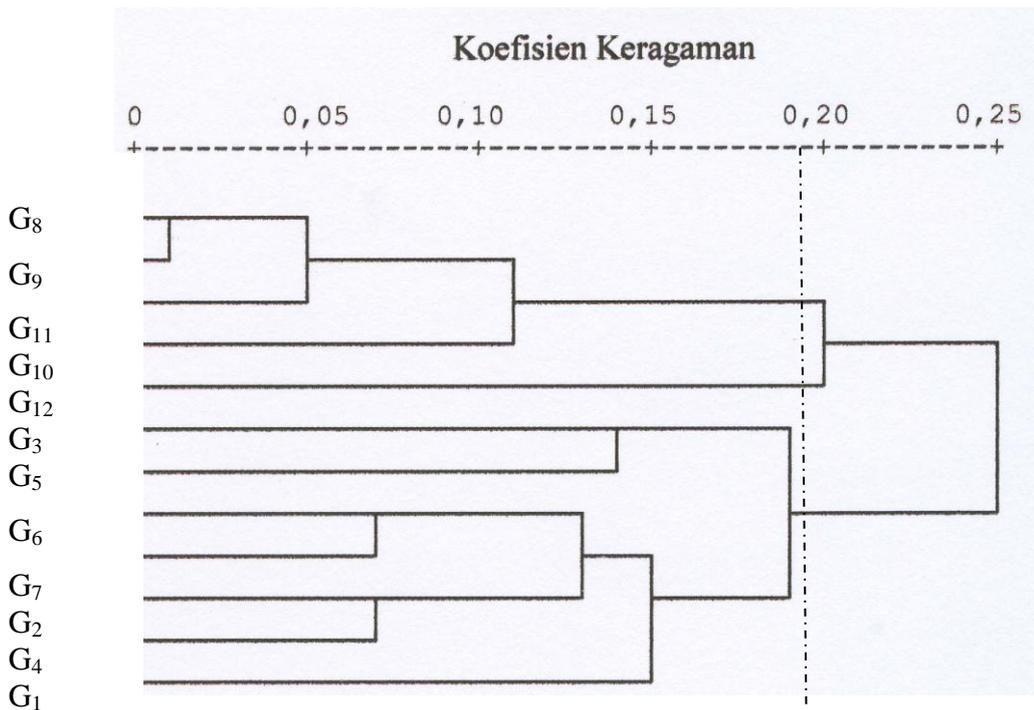
Keragaman pola pita terlihat pada hasil analisis isoenzim PER. Enzim PER menunjukkan pola pita yang terbanyak (12 pola pita isoenzim) dibandingkan enzim lainnya (Tabel 1). Perbedaan pola pita isoenzim berkaitan dengan perbedaan susunan asam amino dari enzim-enzim yang dianalisis (Weeden dan Wendel, 1989). Keragaman pola pita menunjukkan bahwa genotipe-genotipe yang dianalisis memiliki keragaman genetik yang tinggi.

Tabel 2. Kesamaan pola pita isoenzim dari 4 sistem enzim yang digunakan

No	Isoenzim	Genotipe
1	ACP, EST	G ₃ dan G ₄
2	EST, MDH	G ₂ dan G ₄
3	ACP, EST, MDH	G ₈ dan G ₉

Berdasarkan tabel di atas, genotipe G₃ dan G₄ mempunyai kesamaan pola pita pada sistem enzim ACP dan EST. Sistem enzim EST dan MDH yang memiliki kesamaan pola pita adalah genotipe G₂ dan G₄. Berdasarkan sistem enzim ACP, EST dan MDH, genotipe cabai G₈ dan G₉ (Tabel 2). Hal ini dapat diartikan bahwa genotipe cabai yang memiliki pola pita yang sama memungkinkan memiliki sifat yang sama.

Hasil analisis pengelompokan berdasarkan pola pita isoenzim dari genotipe-genotipe cabai merah ditampilkan dalam bentuk dendrogram seperti nampak di bawah ini.



Gambar 5. Dendrogram kemiripan genetik 12 genotipe cabai merah berdasarkan gabungan enzim (ACP, EST, MDH dan PER)

Berdasarkan dendrogram gabungan empat enzim yang digunakan genotipe-genotipe cabai dikelompokkan dalam 3 kelompok pada koefisien keragaman 0,19. Kelompok pertama dari dendrogram terdiri dari 4 genotipe (G₈, G₉, G₁₀ dan G₁₁). Kelompok kedua, dari dendrogram hanya 1 genotipe cabai yaitu G₁₂, dan kelompok ketiga terdiri-dari 7 genotipe cabai (G₃, G₅, G₆, G₇, G₂, G₄, dan G₁).

Berdasarkan dendrogram ACP, EST, MDH, serta PER, dan dendrogram gabungan, G₈ dan G₁₀ menunjukkan adanya kekerabatan yang dekat. Kedua genotipe ini selalu berada dalam satu kelompok. Individu yang memiliki hubungan kekerabatannya dekat kemungkinan besar memiliki kemiripan sifat yang tinggi. Genotipe cabai G₈ dan G₉ berasal dari tetua yang berbeda berdasarkan dendrogram dan ini sejalan dengan perilangan yang telah dilakukan.

Pengelompokan berupa dendrogram hanya berdasarkan pada susunan pola pita isoenzim yang muncul. Pengelompokan ini belum dapat menunjukkan secara pasti asal tetua genotipe-genotipe yang diuji. Penelitian mengenai isoenzim juga telah dilakukan oleh Sujalmo (2005), dari hasil penelitian didapatkan keragaman diantara galur padi gogo toleran kekeringan. Semua sistem enzim yang digunakan dapat menunjukkan pengelompokan dan jarak genetik berdasarkan variasi pola pita isoenzim.

KESIMPULAN DAN SARAN

1. Hasil analisis pola pita isoenzim dengan empat sistem enzim (ACP, EST, MDH dan PER) terdapat keragaman pada genotipe cabai merah yang dicoba.
2. Hasil analisis kekerabatan 12 genotipe cabai merah dapat dikelompokkan dalam 3 kelompok berdasarkan koefisien keragaman 0,19. Kelompok pertama ada 4 genotipe cabai (G₈, G₉, G₁₀ dan G₁₁), kelompok kedua dengan 1 genotipe cabai (G₁₂), dan kelompok ketiga ada 7 genotipe cabai (G₃, G₅, G₆, G₇, G₂, G₄, dan G₁).
3. Genotipe hasil persilangan antara Randu x Jatilaba mempunyai kemiripan dengan X4271xG6321.

Saran yang diberikan adalah :

Pemilihan genotipe cabai merah yang dapat digunakan sebagai bahan persilangan dipilih yang keragaman jauh.

DAFTAR PUSTAKA

- AhnY.K., Tripathi S., Kim J.H., Cho Y.I., Lee H.E., Kim D.S., Woo J.G., and Yoon M.K. 2014. Microsatellite marker information from high-throughputnext-generation sequence data of *Capsicum annuum* varieties Mandarin and Blackcluster. *Scientia Horticulturae*. 170:123–130.
- BPS. 2014. *Horticulture Production*. (On-line). <http://www.bps.go.id/>. Diakses 10 Nopember 2014.
- Chaiyawat P., Boonchitsirikul C., and Lomthaisong KS. 2008. An investigation of a defensive chitinase against *Fusarium oxysporum* in pepper leaf tissue. *Mj. Int. J. Sci. Tech.* 2(01):150-158
- Hadiati, S. 2003. Pendugaan Jarak Genetik dan Hubungan Kekerbatan Nenas Berdasarkan Analisis Isozim. *Jurnal Hortikultura* 13 (2): 87-88.
- Handoko, Teguh Hadi. 2005. Studi Keragaman Pola Pita Isozim Beberapa Galur Kedelai Hasil Mutasi. *Skripsi*. Fakultas Pertanian Universitas Jenderal Soedirman. (Tidak dipublikasikan).
- Malik, S.S dan Singh. 1980. Isozymic Variations in Black and Yellow Seeded Isogenic Lines og Bragg Soybean. *Soybean Genetic News Letter* (4):21-23.
- Mansyah, E., M.J. Anwarudinsyah, L. Sadwiyanti, A. Susiloadi. 1999. Variabilitas Genetik Tanaman Manggis Melalui Analisis Isozim dan Kaitannya dengan Variabilitas Fenotipik. *Zuriat* 10 (1): 2.
- Novarianto, Hengky. 1995. Keragaman Pola Pita Isozim Pada Empat Kultivar Kelapa. *Zuriat* 1 (6): 23-24.
- Novarianto, A. Hartana, F. Rumawas, M.A Rifai, E. Guhardja, dan A.H Nasoetion. 1999. Studi Keterpautan Pola Pita Isozim dengan Karakter Kuantitatif pada Bibit Kelapa F₂. *Zuriat* 1 (10): 48-49.
- Nina, R.D. 1995. Analisis Isoenzim Aspartate Amino Transferase dan Fosfoglukomutase Tanaman Pisang. *Skripsi*. Jurusan Biologi FMIPA IPB, Bogor. (Tidak dipublikasikan).
- Prasetyaningsih, Retna. 2002. Analisis Empat Varietas Kedelai Hasil Iradiasi Sinar Gamma. *Skripsi*. Fakultas Pertanian Universitas Jenderal Soedirman. (Tidak dipublikasikan).
- Rahmiati, A. 2005. Keragaman Pola Pita Isozim Beberapa Galur Harapan Padi Gogo Aromatik Hasil Persilangan Varietas Mentikwangix Poso. *Skripsi*. Fakultas Pertanian Universitas Jenderal Soedirman. (Tidak dipublikasikan).
- Kartikawati, N.K. dan Mohamad Na'iem. 1999. Studi Variasi Genetik Hutan Alam dan Hutan Tanaman *Pinus merkusii* dengan Menggunakan Teknik Isozim. *Agrosains* 12 (1): 72.
- Ketty, S. 1994. Studi karakteristik bibit klonal durian berdasarkan morfologi dan pola pita isozim. *Thesis*. Program Pasca sarjana IPB, Bogor. 76 hal
- Kumar O.A., Rupavathi T., and Tata S.S. 2013. Genetic Variation of Isozyme Polyphenol Oxidase (PPO) Profiles in Different Varieties of *Capsicum annuum* L. *Not Sci Biol.* 5(4):454-457.
- Kumar O.A., Tata SS., and Rupavathi T. 2014. Evaluation of genetic diversity in 21 cultivars of chili pepper (*Capsicum annuum* L.) using isozyme markers. *European Journal of Experimental Biology.* 4(6):44-49.
- Nasir, M. 2001. *Pengantar Pemuliaan Tanaman*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan, Jakarta. 72 hal.
- Salisbury, F.B. dan Cleon W. Ross. 1995. *Fisiologi Tumbuhan Jilid 2*. Terjemahan oleh Lukman dan Sumaryono. ITB, Bandung. 8-9 hal.
- Sugiarti, E. 2002. Keanekaragaman Pola Pita Isozim Beberapa Galur Padi Gogo Toleran Kekeringan. *Skripsi*. Fakultas Pertanian Universitas Jenderal Soedirman. (Tidak dipublikasikan).
- Sugiyarta, E. dan S. Moeljopawiro. 1988. Identifikasi Isozim Peroksidase dan Esterase pada Tanaman Tebu dan Kerabatnya. *Media Penelitian Sukamandi* No.6:36-42.

- Sujalmo, A.P. 2005. Keragaman Genetik Beberapa Galur Padi Gogo Toleran Kekeringan Melalui Studi Pola Pita Isozim. *Skripsi*. Fakultas Pertanian Universitas Jenderal Soedirman. (Tidak dipublikasikan).
- Suketi, K. 1994. Studi karakteristik Bibit Klonal Durian Berdasarkan Morfologi Daun dan Pola Pita Isozim. *Thesis*. Program Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor.
- Szczypinski P.M., Klepaczko A, Zapotoczny P. 2015. Identifying barley varieties by computer vision. *Computers and Electronics in Agriculture*. 110:1–8.
- Weeden, N.F. and Wendel, J.F. 1989. Genetics of Plant Isozymes. *In*: D.E Soltis and P.S Soltis (eds), *Isozymes in Plant Biology*. Dioscorides Press, Portland. Pp: 46-52.
- Wendel, J.F. and N.F. Weeden. 1989. Visualization and Interpretation of Plant Isozymes. *In*: D.E Soltis and P.S Soltis (eds), *Isozymes in Plant Biology*. Dioscorides Press, Portland. Pp: 5-38.
- Wiryanta, B. 2002. *Bertanam Cabai Pada Musim Hujan*. Agro Media Pustaka, Jakarta. 5-6 hal.