

ANALISIS FENETIK TANAMAN KARET (*Hevea brasiliensis* (Willd. ex A. Juss) Mull. Arg.) BERDASARKAN PENANDA ISOZIM DI LIMA KABUPATEN SENTRA PERKEBUNAN KARET RIAU

Ivo Mayasari¹, Fitmawati², Minarni³

¹Mahasiswa Program Studi S1 Biologi

²Dosen Botani Jurusan Biologi

³Dosen Fotonik Jurusan Fisika

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Riau
Kampus Binawidya Pekanbaru, 28293, Indonesia

email: ivo_mayasari23@yahoo.com

ABSTRACT

Many kinds of rubber plants (*Hevea brasiliensis* (Willd. ex A. Juss) Mull. Arg.) has been cultivated in Riau Province. Phenetic analysis of rubber plants can give information about their relationship. Study to obtain information about the relationship among rubber plants which are grown in 5 rubber plantation centers in Riau was conducted based on isozyme markers. A total of 15 trees had been studied. The samples were taken from 5 regencies i.e. Bengkalis, Meranti, Kuantan Singingi, Kampar, and Rokan Hulu using an exploration method. Four enzymes (PER, EST, ACP, and AAT) were used for similarity and clustering analysis using NTSys program version 2.02. The result of this research showed 19 polymorphic bands, 9 bands from PER, 5 bands from EST, 2 bands from ACP, and 3 bands from AAT enzyme. The similarity analysis of 15 individuals showed that the similarity coefficient ranged from 0.47-1. The clustering result showed that all of individuals were grouped at the coefficient of 0.59. Most of the samples were grouped together based on the band similarity. However, all of samples collected from Bengkalis, as well as Kuantan Singingi, formed a cluster due to the high band similarity.

Keywords : isozyme, phenetic, Riau Province, rubber plants, similarity

ABSTRAK

Tanaman karet (*Hevea brasiliensis* (Willd. ex A. Juss) Mull. Arg.) banyak dibudidayakan di Propinsi Riau. Analisis fenetik pada tanaman karet dapat memberikan informasi tentang hubungan kekerabatan antar tanaman karet. Penelitian untuk mendapatkan informasi tentang kekerabatan antar tanaman karet yang tumbuh di lima sentra perkebunan karet Riau telah dilakukan berdasarkan penanda isozim. Sebanyak 15 sampel telah di teliti. Sampel diambil dari 5 kabupaten yaitu Bengkalis, Meranti, Kuantan Singingi, Kampar, dan Rokan Hulu menggunakan metode eksplorasi. Empat macam enzim (PER, EST, ACP, dan AAT) digunakan untuk analisis similaritas dan kekerabatan menggunakan program NTSys versi 2.02. Hasil penelitian menunjukkan terdapat 19 pita polimorfik, 9 pita dari enzim PER, 5 pita dari enzim EST, 2 pita dari enzim ACP, dan 3 pita dari enzim AAT. Analisis similaritas pada 15 individu tanaman

karet menunjukkan bahwa koefisien similaritas berkisar dari 0.47-1. Hasil pengelompokan menunjukkan bahwa semua individu mengelompok pada koefisien 0.59. Sebagian besar sampel mengelompok berdasarkan kesamaan pita. Namun, semua sampel yang berasal dari Bengkalis dan juga Kuantan Singingi membentuk satu kelompok karena memiliki kesamaan pita yang tinggi.

Kata kunci : fenetik, isozim, Propinsi Riau, similaritas, tanaman karet

PENDAHULUAN

Karet (*Hevea brasiliensis* (Willd. ex A. Juss) Mull. Arg.) merupakan tanaman yang berasal dari Amerika Latin, tepatnya Brazil dan diperkirakan masuk ke wilayah Indonesia pada tahun 1872-1876 dibawa oleh Henry A. Wickham. Biji karet Wickham ini pertama kali ditanam di Kebun Raya Bogor (Raswil, 1998). Walaupun bukan tanaman asli Indonesia, tanaman karet merupakan tanaman yang banyak dibudidayakan di Indonesia. Sebanyak 15 propinsi di Indonesia tercatat sebagai sentra produksi karet nasional dan salah satunya adalah Propinsi Riau. Departemen Pertanian Direktorat Jendral Perkebunan tahun 2012 mencatat luas perkebunan karet di Riau pada tahun 2011 sebesar 393.484 ha dan banyak tersebar di sentra-sentra perkebunan karet di Riau. Daerah sentra perkebunan karet Riau terdapat di beberapa kabupaten diantaranya Kabupaten Bengkalis, Meranti, Kuantan Singingi, Kampar, dan Rokan Hulu (Departemen Pertanian Direktorat Jendral Perkebunan, 2012). Hingga saat ini, telah lebih dari satu abad karet ditanam secara luas di Propinsi Riau dan menjadi sumber utama penghasilan masyarakat Riau.

Penyebaran tanaman karet di Riau yang telah berlangsung sejak lama memungkinkan telah terjadi persilangan-persilangan di antara tanaman karet baik secara alami maupun buatan. Secara alami terjadi karena adanya interaksi antara tanaman karet dengan lingkungan tempat hidupnya, sedangkan secara buatan dapat terjadi karena persilangan-persilangan yang sengaja dilakukan oleh manusia untuk mendapatkan tanaman karet unggul. Setiap kali terjadi persilangan, struktur genetik atau genotipe dari tanaman akan berubah. Akibatnya, muncul keanekaragaman genetik pada tanaman karet yang menimbulkan berbagai variasi.

Analisis fenetik terhadap tanaman karet dapat memberikan informasi tentang hubungan kekerabatan antar individu karet. Hal ini dapat dilihat dari seberapa jauh keragaman yang dimiliki oleh individu karet. Semakin besar keragaman yang dimiliki maka hubungan kekerabatannya dengan individu lain juga akan semakin jauh. Dengan demikian, analisis keragaman genetik dapat menggambarkan bagaimana hubungan kekerabatan tanaman karet yang tumbuh di lima sentra perkebunan karet Riau setelah lebih dari satu abad ditanam di Propinsi Riau.

Upaya dalam mengidentifikasi keragaman genetik dalam analisis fenetik tanaman karet dapat dilakukan melalui pendekatan isozim. Analisis keragaman genetik menggunakan penanda isozim sebelumnya juga pernah dilakukan terhadap beberapa tanaman seperti kelapa (Hengky dan Hartana, 1995), talas (Prana *et al.*, 1999), ganyong (Ashary, 2001), kedelai (Cahyarini *et al.*, 2004), jarak pagar (Yunus, 2007), kenaf (Indriani *et al.*, 2008), dan kapas (Sulistyowati *et al.*, 2009).

Isozim merupakan produk langsung dari gen yang dapat digunakan sebagai ciri genetik untuk mempelajari dan mengidentifikasi keragaman suatu individu (Shukor,

2001). Penggunaan isozim dalam analisis keragaman genetik memiliki kelebihan karena isozim diatur oleh gen tunggal dan bersifat kodominan dalam pewarisan (Cahyarini *et al.*, 2004). Menurut Murawski dan Bawa (1994) proses analisis pada isozim jika dibandingkan dengan analisis genetik lain seperti DNA, maka isozim akan lebih mudah, menghemat biaya, waktu, serta proses analisis tidak merusak pohon karena hanya sebagian kecil jaringan tanaman yang diambil. Keanekaragaman genetik tersebut dapat dilihat berdasarkan keanekaragaman pola pita yang terbentuk dari sistem enzim yang digunakan yaitu PER (*peroksidase*), EST (*esterase*), ACP (*acid phosphatase*), dan AAT (*aspartate aminotransferase*). Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui hubungan kekerabatan tanaman karet yang tumbuh di lima kabupaten sentra perkebunan karet Riau melalui analisis fenetik berdasarkan penanda isozim.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan pada bulan Desember 2013. Lokasi pengambilan sampel di lima kabupaten yang merupakan daerah sentra perkebunan karet Riau, yaitu Kabupaten Bengkalis, Meranti, Kuantan Singingi, Kampar, dan Rokan Hulu. Analisis isozim dilakukan di Laboratorium Hayati Pusat Studi Bioteknologi dan Sumber Daya Hayati Institut Pertanian Bogor, Bogor.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian adalah GPS (*Global Positioning System*), kamera digital, kertas koran, air bersih, plastik, *tupperware*, timbangan digital, gunting, mortar, kertas whatman, *hot plate*, *vacum*, pH meter, elektroforesis, dan lampu pengamatan. Bahan yang digunakan dalam penelitian yaitu daun tanaman karet, pasir kuarsa, aquades, buffer pengestrak, buffer gel, buffer elektroda, pati kentang, serta larutan substrat pewarna spesifik untuk enzim ACP (*acid phosphatase*), AAT (*aspartate aminotransferase*), PER (*peroksidase*), dan EST (*esterase*).

Prosedur Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksplorasi. Tanaman yang dipilih sebagai sampel adalah tanaman karet yang berumur 15-25 tahun. Setiap kabupaten dipilih tiga individu karet berdasarkan tingkat produktivitas lateks, yaitu satu individu yang menghasilkan lateks rendah (produksi lateks 1-150 g), satu individu yang menghasilkan lateks sedang (produksi lateks 151-300 g), dan satu individu yang menghasilkan lateks tinggi (produksi lateks 301-450 g), sehingga total seluruh individu yang dianalisis di lima kabupaten sebanyak lima belas individu karet. Tahapan dalam analisis isozim meliputi ekstraksi protein, pemisahan protein dengan elektroforesis, pewarnaan isozim, dan pengamatan pola pita isozim. Analisis isozim mengikuti metode yang digunakan oleh Wendel dan Weeden (1989). Pita yang terbentuk diberi skor dengan cara memberi angka 1 jika pada jarak migrasi (*Rf*) tertentu terdapat pita dan angka 0 apabila tidak terdapat pita.

Analisis Data

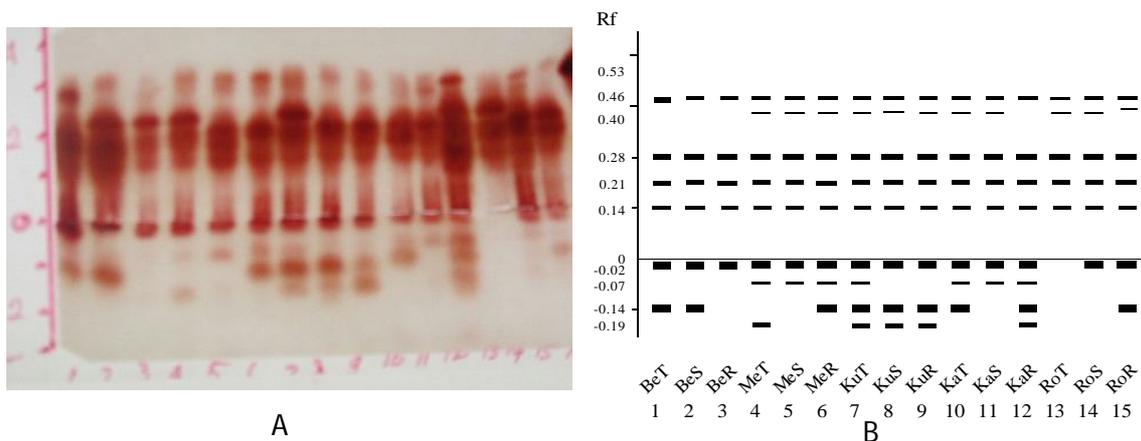
Hasil skor dari pengamatan pola pita isozim digunakan untuk analisis similaritas dan analisis fenetik menggunakan program NTSys (*Numerical Taxonomy and Multivariate System*) versi 2.02.

HASIL DAN PEMBAHASAN

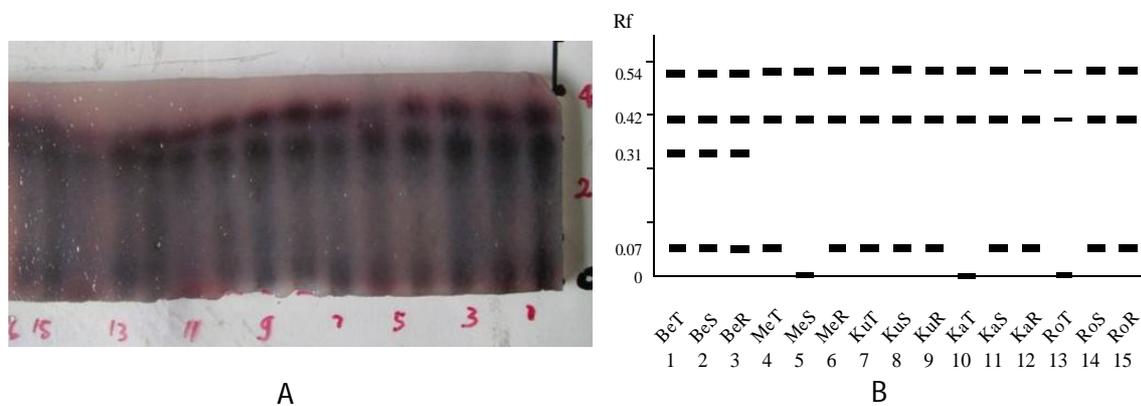
Karakterisasi Tanaman Karet Berdasarkan Penanda Isozim

Karakterisasi individu karet menggunakan penanda isozim dilakukan berdasarkan pita-pita hasil elektroforesis dari 4 macam sistem enzim. Pola pita yang terbentuk setelah pewarnaan digunakan sebagai karakter pembeda yang dapat menggambarkan keragaman, kemiripan serta kekerabatan antar individu karet. Pergerakan enzim pada media gel sewaktu dilakukan elektroforesis menyebabkan terbentuknya pola pita. Pola pita tersebut sebenarnya adalah enzim-enzim yang memiliki berat molekul dan muatan yang berbeda. Ketika diberi aliran listrik, enzim dengan berat molekul yang lebih besar akan bergerak lebih lambat pada media gel sedangkan enzim dengan berat molekul lebih kecil dapat bergerak lebih cepat, sehingga sewaktu dilakukan pewarnaan terlihat seperti pita-pita (*band*). Keragaman genetik individu karet dapat diketahui berdasarkan pengamatan terhadap pola pita yang terbentuk. Hasil elektroforesis menunjukkan adanya polimorfisme bentuk pita yang dihasilkan dari semua sistem enzim yang digunakan.

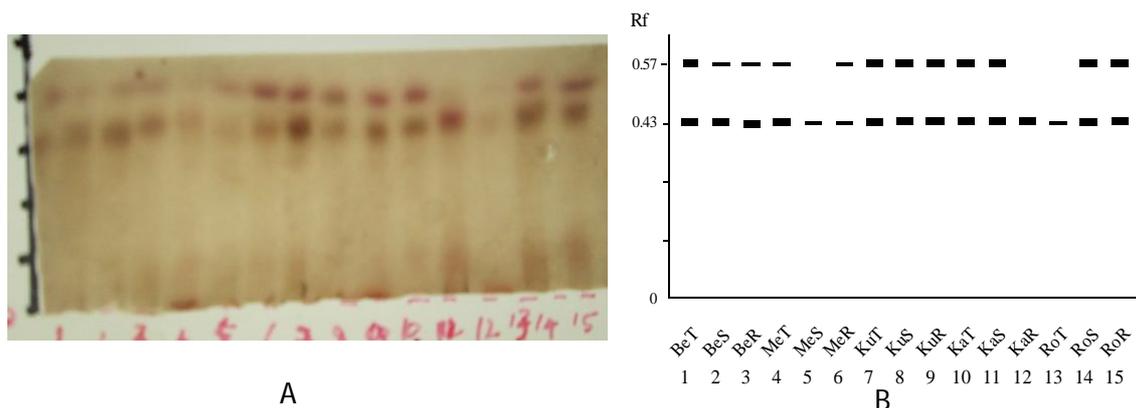
Hasil pewarnaan pada isozim PER menghasilkan pita yang bermigrasi ke kutub positif dan kutub negatif. Terdapat 9 pita yang terbentuk dari sistem enzim PER, 4 pita pada kutub negatif dan 5 pita pada kutub positif (Gambar 1). Pita PER pada Rf 0.14, Rf 0.21, Rf 0.28, dan Rf 0.46 dimiliki oleh semua individu karet. Pola pita isozim EST yang terbentuk juga menggambarkan adanya polimorfisme karena menghasilkan 5 pita (Gambar 2). Pita EST pada Rf 0.42 dan Rf 0.54 dimiliki ke 15 sampel tanaman karet. Pewarnaan pada sistem enzim ACP hanya memperlihatkan 2 macam pola pita (Gambar 3). Pita pertama dimiliki oleh semua individu karet, namun pita kedua tidak dimiliki oleh individu MeS (individu karet dari Kabupaten Meranti produktivitas lateks sedang), individu KuR (individu karet dari Kabupaten Kuantan Singingi produktivitas lateks rendah), dan individu RoT (individu karet dari Kabupaten Rokan Hulu produktivitas lateks tinggi). Pada sistem enzim AAT, pola pita yang terbentuk jika diamati langsung tidak dapat terlihat dengan jelas (Gambar 4), sehingga pita dikarakter di atas lampu pengamatan dan dihasilkan 3 pita. Pita pada Rf 0.14 dimiliki oleh ke tiga individu karet yang berasal dari Kabupaten Kuantan Singingi (individu KuT, KuS, dan KuR) dan juga individu karet yang berasal dari Kabupaten Rokan Hulu produktivitas lateks sedang dan rendah (individu RoS dan RoR), sedangkan pita pada Rf 0.21 dan Rf 0.28 dimiliki oleh semua individu karet kecuali individu RoT (individu karet dari Kabupaten Rokan Hulu produktivitas lateks tinggi).



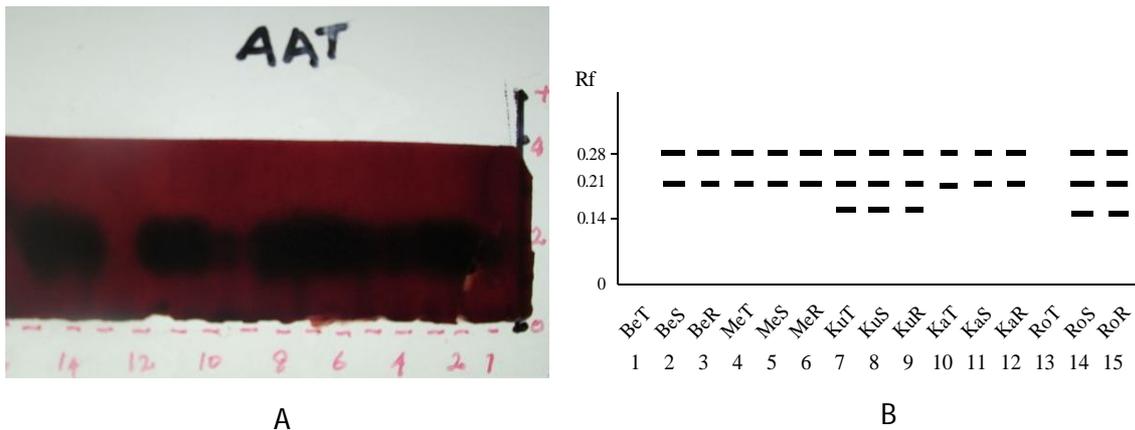
Gambar 1. Pola pita isozim PER pada gel pati (A), interpretasi pola pita isozim PER (B) 15 individu karet dari 5 kabupaten



Gambar 2. Pola pita isozim EST pada gel pati (A), interpretasi pola pita isozim EST (B) 15 individu karet dari 5 kabupaten



Gambar 3. Pola pita isozim ACP pada gel pati (A), interpretasi pola pita isozim ACP (B) 15 individu karet dari 5 kabupaten



Gambar 4. Pola pita isozim AAT pada gel pati (A), interpretasi pola pita isozim AAT (B) 15 individu karet dari 5

Analisis Similaritas Tanaman Karet Berdasarkan Penanda Isozim

Berdasarkan penanda isozim, koefisien kesamaan antar 15 individu karet berkisar dari 0.47-1 (Tabel 1). Nilai Kf tertinggi yaitu 1 terdapat pada individu KuS dengan KuR. Kedua individu ini berasal dari Kabupaten Kuantan Singingi yang memiliki produktivitas lateks sedang (KuS) dan rendah (KuR). Berdasarkan penanda isozim, individu KuR dengan KuS 100% mirip karena pola pita yang terbentuk dari ke empat sistem enzim dari ke dua individu ini sama. Individu KuS dan KuR sama-sama memiliki pita PER pada Rf -0.19, -0.14, -0.02, 0.14, 0.21, 0.28, 0.40, dan 0.46, pita EST pada Rf 0.07, 0.42, dan 0.54, pita ACP pada Rf 0.43 dan 0.57, serta pita AAT pada Rf 0.14, 0.21, dan 0.28.

Tabel 1. Matriks similaritas 15 individu karet berdasarkan penanda isozim

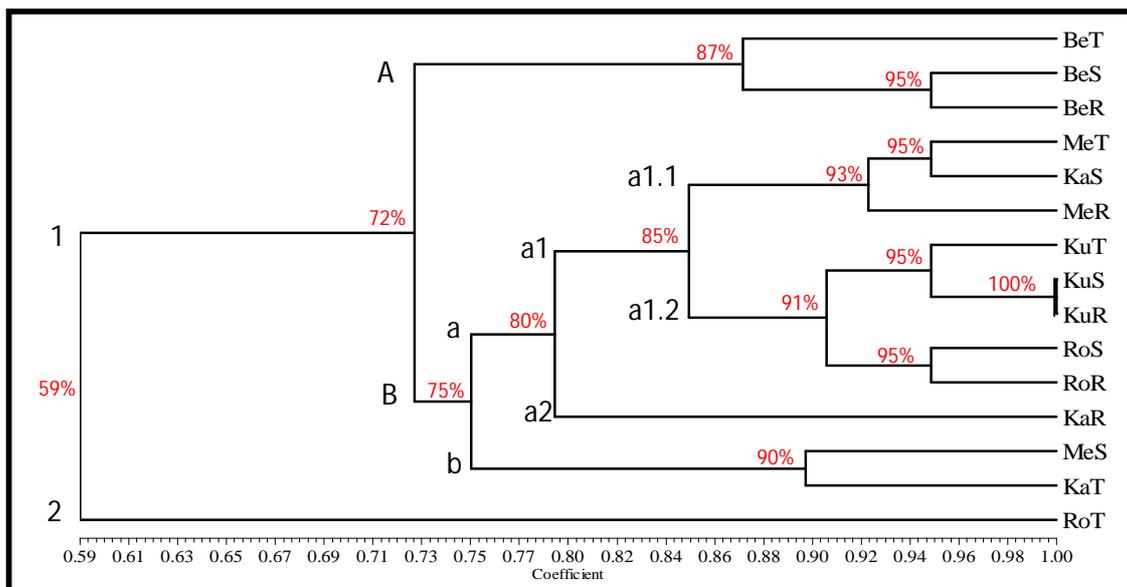
	BeT	BeS	BeR	MeT	MeS	MeR	KuT	KuS	KuR	KaT	KaS	KaR	RoT	RoS	RoR
BeT	1.00														
BeS	0.89	1.00													
BeR	0.84	0.95	1.00												
MeT	0.63	0.74	0.79	1.00											
MeS	0.53	0.63	0.68	0.79	1.00										
MeR	0.74	0.84	0.79	0.89	0.79	1.00									
KuT	0.63	0.74	0.68	0.89	0.68	0.89	1.00								
KuS	0.68	0.79	0.74	0.84	0.63	0.84	0.95	1.00							
KuR	0.68	0.79	0.74	0.84	0.63	0.84	0.95	1.00	1.00						
KaT	0.63	0.74	0.68	0.79	0.89	0.89	0.79	0.74	0.74	1.00					
KaS	0.68	0.79	0.84	0.95	0.84	0.95	0.84	0.79	0.79	0.84	1.00				
KaR	0.68	0.79	0.74	0.84	0.74	0.84	0.84	0.79	0.79	0.74	0.79	1.00			
RoT	0.63	0.53	0.58	0.58	0.79	0.58	0.47	0.53	0.53	0.68	0.63	0.53	1.00		
RoS	0.68	0.79	0.84	0.84	0.74	0.84	0.84	0.89	0.89	0.74	0.89	0.68	0.63	1.00	
RoR	0.74	0.84	0.79	0.79	0.68	0.89	0.89	0.95	0.95	0.79	0.84	0.74	0.58	0.95	1.00

Nilai Kf terendah (0.47) terdapat pada individu KuT dengan RoT. Kedua individu ini hanya memiliki 8 karakter pita yang sama dari 19 karakter pita yang digunakan. Pita yang sama pada individu KuT dengan RoT adalah pita PER pada Rf 0.14, 0.21, 0.28, 0.40, 0.46, pita EST pada Rf 0.42, 0.56, serta pita ACP pada Rf 0.43. Rentang kemiripan dari 47% hingga 100% (Kf 0.47-1) merupakan nilai yang cukup beragam karena secara umum pita-pita yang dihasilkan dari empat macam sistem enzim juga bervariasi. Semakin sedikit pola pita yang mirip antar individu karet, maka akan semakin rendah pula nilai similaritas atau kemiripannya. Terdapat 19 karakter isozim yang digunakan dalam analisis similaritas, 7 diantaranya merupakan karakter isozim yang dimiliki oleh semua individu karet. Karakter tersebut adalah pita Rf 0.14, 0.21, 0.28, dan 0.46 (pada sistem enzim PER), Rf 0.42 dan 0.54 (pada sistem enzim EST), serta Rf 0.43 (pada sistem enzim ACP).

Kekerabatan Berdasarkan Penanda Isozim

Analisis kekerabatan secara fenetik menghasilkan dendrogram seperti pada gambar 5. Sebanyak 19 karakter isozim karet yang digunakan dalam analisis kekerabatan secara fenetik menghasilkan Kf berkisar antara 0.59-1 atau keragaman dari 0-41%. Berdasarkan kesamaan karakter isozim, beberapa individu karet cenderung mengelompok berdasarkan lokasi pengambilan sampel (individu dari Kabupaten Bengkalis dan Kuantan Singingi), meskipun beberapa individu lainnya mengelompok kedalam kelompok lainnya.

Pada Kf 0.59 dibentuk 2 kelompok (1 dan 2) yang pisah berdasarkan karakter enzim PER (Rf -0.02). Semua individu yang masuk kedalam kelompok 1 memiliki enzim PER pada Rf -0.02 yang terdiri dari 14 individu karet yang terbagi menjadi beberapa sub kelompok. Kelompok 2 hanya beranggotakan satu individu yang berasal dari Kabupaten Rokan Hulu yang produktivitas lateksnya tinggi (RoT). RoT membentuk cabang sendiri karena tidak memiliki enzim PER pada Rf -0.02.



Gambar 5. Pohon kekerabatan (dendrogram) 15 individu karet berdasarkan penanda isozim

Kelompok 1 pada Kf 0.72 membentuk 2 sub kelompok (sub kelompok A dan B). Sub kelompok A terdiri dari 3 individu yang semuanya berasal dari Kabupaten Bengkalis (BeT, BeS, dan BeR). Berdasarkan karakter isozim, individu karet yang berasal dari Kabupaten Bengkalis ternyata berkerabat dekat (Kf 0.87). Karakter isozim yang sama-sama dimiliki oleh ketiga individu tersebut adalah pita PER pada Rf -0.02, 0.14, 0.21, 0.28, 0.46, pita EST pada Rf 0.07, 0.31, 0.42, 0.54, serta pita ACP pada Rf 0.43, 0.57.

Berdasarkan ada atau tidaknya karakter isozim EST (Rf 0 dan 0.07), sub kelompok B pecah menjadi 2 kelompok (a dan b). Kelompok a terdiri dari individu yang tidak memiliki pita EST pada Rf 0 namun memiliki pita EST pada Rf 0.07. Pada Kf 0.80 sub kelompok a pecah menjadi 2 kelompok (a1 dan a2) yang disebabkan oleh karakter pita PER pada Rf 0.40 dan pita ACP pada Rf 0.57. Kelompok a1 pada Kf 0.85 pecah lagi menjadi 2 kelompok (a1.1 dan a1.2). Kelompok a1.1 terdiri dari 3 individu yaitu MeT, MeR, dan KaS yang bergabung berdasarkan kesamaan pada 14 karakter isozim. Kelompok a1.2 terdiri dari 5 individu karet yaitu KuT, KuS, KuR, RoS dan RoR, namun pada Kf 0.91 memisah berdasarkan lokasi pengambilan sampel. Individu yang berasal dari Kabupaten Kuantan Singingi mengelompok pada Kf 0.95, berdasarkan karakter isozim individu ini memiliki kekerabatan yang dekat karena memiliki kesamaan pada 16 karakter isozim, bahkan pada individu KuS dan KuR keduanya 100% mirip karena ke empat sistem enzim yang digunakan memunculkan pita yang sama. Individu dari Rokan Hulu (RoS dan RoR) juga mengelompok pada Kf 0.95 karena kesamaan pada 14 karakter isozim yaitu pita PER pada Rf -0.02, 0.14, 0.21, 0.28, 0.40, 0.46, pita EST pada Rf 0.07, 0.42, 0.54, pita ACP pada Rf 0.43, 0.57, serta pita AAT pada Rf 0.14, 0.21, dan 0.28.

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan penanda isozim menggunakan empat sistem enzim yaitu PER, EST, ACP dan AAT menghasilkan 19 pita polimorfik, 9 pita dari sistem enzim PER, 5 pita dari sistem enzim EST, 2 pita dari sistem enzim ACP, dan 3 pita dari sistem enzim AAT. Analisis similaritas menunjukkan koefisien kesamaan berkisar dari 0.47-1. Analisis fenetik terhadap 15 individu karet dari 5 kabupaten yang tumbuh di Propinsi Riau menghasilkan Kf antara 0.59-1 atau keragaman dari 0-41%. Individu karet yang berkerabat dekat dan mengelompok berdasarkan asal kabupaten adalah individu dari Kabupaten Bengkalis dan Kuantan Singingi. Analisis fenetik terhadap tanaman karet yang tumbuh di Propinsi Riau dapat dilanjutkan menggunakan sistem enzim yang lain atau menggunakan penanda selain isozim.

DAFTAR PUSTAKA

- Ashary SS. 2010. Studi keragaman ganyong (*Canna edulis* Ker.) di wilayah ekskaresidenan Surakarta berdasarkan ciri morfologi dan pola pita isozim [skripsi]. Surakarta: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret.
- Cahyarini RD, Yunus A, Purwanto E. 2004. Identifikasi keragaman genetik beberapa varietas lokal kedelai di Jawa berdasarkan analisis isozim. *Agrosains* 6(2):79-83.

- Departemen Pertanian Direktorat Jenderal Perkebunan. 2012. *Pedoman Teknis Peremajaan Tanaman Karet Tahun 2012*. Jakarta: Departemen Pertanian Direktorat Jenderal Perkebunan.
- Hengky N, Hartana A. 1995. Analisis kemiripan kelapa koleksi plasma nutfah di kebun percobaan Mapanget Sulawesi Utara. *Hayati* 2(1):12-16.
- Indriani FC, Sudjindro AN, Sugiharto, Soetopo L. 2008. Keragaman genetik plasma nutfah kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) dan beberapa spesies yang sekerabat berdasarkan analisis isozim. *Agritek* 6(9):1793-1802.
- Murawski DA, Bawa KS. 1994. Genetic structure and mating system of *Stemonoporus oblongifolius* (Dipterocarpaceae) in Srilangka. *American Journal Botany* 81(2):155-160.
- Prana TK, Hartati NS, Prana MS. 1999. Studi variasi isozim pada talas dari Sulawesi Selatan. *Hayati* 6(4):81-86.
- Raswil R. 1998. Pengaruh okulasi tajuk terhadap sifat teknis karet klon GT 1. *Journal Agrotropika* 111(3):14-18.
- Shukor NAA. 2001. Biochemical markers in plant genetic resources characterization. Di dalam Saad MS and Rao VR, editor. Establishment and management of Field Gene Bank, a training manual IPGRI-APO. Serdang: UPM Campus.
- Sulistyowati E, Sulistyowati S, Rustini S, Sumartini, Abdurrakhman. 2009. Variasi genetik beberapa spesies kapas (*Gossypium sp*) berdasarkan keragaman pola pita isozim. *Jurnal Litri* 15(4):174-183.
- Wendel JF, Weeden NF. 1989. Visualization of plant isozymes. Di dalam: Soltis DE, Soltis PS, editors. *Isozymes in Plant Biology*. Portland: Dioscorides Press.
- Yunus A. 2007. Identifikasi keragaman genetik jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) di Jawa Tengah berdasarkan penanda isoenzim. *Biodiversitas* 8(3):249-252.