

Kimpul (*Xanthosoma* spp.) characterization based on morphological characteristic and isozymic analysis

NURMIYATI^{1,*}, SUGIYARTO², SAJIDAN^{1,2}

Nurmiyati, Sugiyarto, Sajidan. 2010. Kimpul (Xanthosoma spp.) characterization based on morphological characteristic and isozymic analysis.

This research is aimed: (i) to know the variety of kimpul (*Xanthosoma* spp.) based on morphological characteristics and isozymes analysis; (ii) to know the correlation between its genetic space based on morphological characteristics and its genetic resemblance based on isozymes-banding pattern. This research results were analyzed and described by descriptive qualitative methods. Morphological observation was carried out in sub-District of Galur, Lendah and Girimulyo, Kulonprogo District, Yogyakarta. Morphological data of the kimpul plant was explored descriptively and then made dendogram. Data of isozymic banding pattern were analyzed quantitatively based on the appearance of the band on the gel, and qualitatively based on the thickness of the band formed, and then made dendogram. The correlation, between its genetic distance based on morphological characteristics and its genetic resemblance based on isozymes-banding pattern, were then analyzed grounded on coefficient correlation between *product-moment* and *goodness of fit* criteria based on correlation. The results pointed out that morphologically, on eight observed samples which were consist of four different types (species), each *Xanthosoma* from different locations did not indicate obvious differences. *Esterase* was formed four different banding-patterns, *Glutamate Oxaloacetate Transaminase* indicated eight different banding-patterns, and *Peroxidase* indicated seven different banding-patterns. Correlation between morphological data and data from *EST* and *GOT* isozymic banding pattern were very good (0.967918 and 0.937113), While, the correlations between morphological data and *POD* isozymes were good (0.892721).

Key words: kimpul, *Xanthosoma*, morphological characteristic, isozyme

Nurmiyati, Sugiyarto, Sajidan. 2010. Kimpul (Xanthosoma spp.) characterization based on morphological characteristic and isozymic analysis.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keragaman tanaman kimpul (*Xanthosoma* spp.) berdasarkan karakter morfologi dan analisis isozim serta korelasi antara jarak genetik berdasarkan karakter morfologi dan kemiripan genetik berdasarkan pola pita isozim. Penelitian morfologi dilakukan di Kecamatan Galur, Lendah dan Girimulyo, Kabupaten Kulonprogo, Yogyakarta. Data morfologi diuraikan secara deskriptif dan dibuat dendogram hubungan kekerabatan. Data pola pita isozim dianalisis secara kuantitatif berdasarkan muncul tidaknya pita pada gel kemudian dibuat dendogram. Korelasi antara jarak genetik berdasarkan karakter morfologi dan kemiripan genetik berdasarkan pola pita isozim dianalisis berdasarkan koefisien korelasi *product-moment* dengan kriteria *goodness of fit*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa secara morfologi pada delapan sampel dari empat macam kimpul yang ditemukan di lokasi yang berbeda tidak menunjukkan perbedaan yang nyata. Pola pita isozim *Esterase* yang terbentuk menunjukkan empat pola pita yang berbeda, isozim *Glutamat Oksaloasetat Transaminase* menunjukkan delapan pola pita yang berbeda dan isozim *Peroksidase* menunjukkan tujuh pola pita yang berbeda. Korelasi data morfologi dengan pola pita isozim *EST* dan *GOT* sangat baik (0,967918 dan 0,937113), sedangkan dengan isozim *POD* berkorelasi baik (0,892721).

Kata kunci: kimpul, *Xanthosoma*, karakter morfologi, isozim

♥ Alamat korespondensi:

- ¹ Program Studi Pendidikan Biologi, Jurusan Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Sebelas Maret, Surakarta 57126, Jawa Tengah, Indonesia
- ² Program Studi Biosains, Program Pascasarjana, Universitas Sebelas Maret, Surakarta 57126, Jawa Tengah, Indonesia

Manuskrip diterima: 27 Juli 2009.
Revisi disetujui: 28 September 2009.

♥♥

Edisi bahasa Indonesia dari:
Nurmiyati, Sugiyarto, Sajidan. 2009. Kimpul (*Xanthosoma* spp.) characterization based on morphological characteristic and isozymic analysis. Nusanara Bioscience 1: 138-145

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara dengan kekayaan alam yang melimpah. Saat ini Indonesia menduduki peringkat ketiga dunia dalam hal keanekaragaman hayati. Ironisnya, dengan

kekayaan alam yang melimpah Indonesia masih terancam dengan adanya krisis pangan. Kekayaan sumber daya alam yang dimiliki Indonesia belum dapat menjamin kesejahteraan rakyatnya. Upaya diversifikasi sebagai pola penciptaan kemandirian pangan harus segera

dilakukan guna mengurangi permasalahan di subsektor tanaman padi. Peningkatan produksi pangan dapat ditempuh dengan cara pengembangan dan pemanfaatan keanekaragaman hayati yang selama ini belum dimanfaatkan secara optimal. Keanekaragaman tanaman pangan yang ada dan memiliki potensi untuk dikembangkan di antaranya adalah golongan sereal dan umbi-umbian sebagai sumber karbohidrat serta kacang-kacangan sebagai sumber protein. Jenis umbi-umbian yang bisa dimanfaatkan secara lebih optimal diantaranya adalah ubi kayu, ubi jalar, talas, kimpul, garut dan ganyong yang dapat menjadi bahan pangan utama pengganti beras. Sumber daya hayati umbi-umbian, misalnya kimpul belum dimanfaatkan secara optimal untuk memenuhi kebutuhan pangan. Kimpul hanya dimanfaatkan sebagai sumber pangan alternatif di daerah-daerah tertentu apabila terjadi paceklik atau bencana alam. Padahal kimpul merupakan sumber karbohidrat yang mudah dicerna dan memiliki kandungan karbohidrat sekitar 70-80% (Kusumo *et al.* 2002).

Potensi dari komoditas tersebut belum didukung dengan data yang baik. Menurut Kusumo *et al.* (2002) jumlah genotipe kimpul (*Xanthosoma*) yang ada di Indonesia belum terdata. Oleh sebab itu, untuk menggali potensi yang dimiliki tanaman kimpul perlu dilakukan pendataan sifat-sifat pentingnya dengan melakukan karakterisasi. Karakterisasi dilakukan untuk mengetahui keragaman tanaman yang ada di lapangan baik berupa keragaman karakter morfologi, agronomi, fisiologi, marka isozim maupun marka molekuler.

BAHAN DAN METODE

Tempat dan waktu penelitian

Koleksi dan karakterisasi tanaman dilakukan di Kabupaten Kulonprogo, Yogyakarta, yaitu di Kecamatan Galur (0-25 m dpl.), Lendah (7-100 m dpl.) dan Girimulyo (25-> 500 m dpl.). Analisis pola pita isozim dilakukan di Laboratorium Pemuliaan Tanaman, Fakultas Kehutanan Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.

Bahan

Bahan untuk karakterisasi morfologi adalah spesimen contoh dari tanaman kimpul (*Xanthosoma* spp.) dari Kabupaten Kulonprogo. Analisis isozim menggunakan tiga sistem enzim, yaitu: esterase (*EST*), glutamat oksaloasetat

transaminase (*GOT*) dan peroksidase (*PER*) dalam gel poliakrilamid.

Pengamatan morfologi

Karakter morfologi yang diamati meliputi karakter vegetatif dan kormel/umbi entiknya berdasarkan buku panduan Kusumo *et al.* (2002) dan Tjitrosoepomo (2003).

Keragaman isozim (Suranto 1991, 2000, 2001)

Pengambilan sampel. Daun muda setiap tanaman sampel, kemudian ditimbang dengan timbangan analitik hingga mencapai 100 mg dan diletakkan pada mortar untuk diekstrak.

Ekstraksi sampel. Batang muda dihancurkan dengan mortar, kemudian diberi larutan ekstrak buffer sekitar 1 mL dan dilumatkan lagi hingga halus kemudian dimasukkan ke tabung ependorf. Menyiapkan centrifuge hingga dingin (suhu $\pm 0^{\circ}\text{C}$), dan diputar dengan kecepatan 700-1500 rpm selama ± 20 menit. Supernatan yang jernih dapat segera digunakan untuk elektroforesis atau didinginkan pada suhu -20°C untuk kemudian digunakan.

Pembuatan gel poliakrilamid. Gel poliakrilamid terdiri atas 2 bagian, yaitu *running gel* yang terletak di bagian bawah dengan konsentrasi 7.5% dan *spacer gel* yang terletak di bagian atas *running gel* dengan kepekatan 3.75%.

Pembuatan *running gel*. Seluruh larutan bahan dicampur, setelah homogen campuran dimasukkan ke *glass electrophoresis*. Pada bagian tepi kiri, kanan dan bawah dipasang sekat (*shiled tube*). Selanjutnya untuk membuat permukaan gel menjadi rata dapat ditambahkan alkohol dan air. Kemudian alkohol dan air disedot keluar dengan aspirator agar bagian atas *running gel* dapat dituangi dengan *spacer gel*.

Pembuatan *spacer gel*. Setelah larutan dicampur dan homogen, campuran ini dimasukkan dalam *glass electrophoresis* tepat di atas *running gel*. Kemudian *sample comb* dipasang pada *spacer gel* dan *glass electrophoresis* dipanasi dengan lampu neon $\pm 0,5-1$ jam agar memadat. Setelah *spacer gel* memadat, *sample comb* dilepas sehingga akan terdapat lubang-lubang yang akan diisi dengan supernatan.

Proses elektroforesis. Proses elektroforesis dilakukan menggunakan alat elektroforesis tipe vertikal, lengkap dengan *power supply-nya*. Langkah pertama yaitu penutup bak elektroforesis dibuka dan bak diisi larutan *elektroda buffer tank* setinggi ± 2 cm. Larutan ini berfungsi sebagai penghantar arus listrik selama elektroforesis secara berhadapan-hadap. Kemudian

ditambahkan larutan *running buffer tank* ke bagian dalam plat yang telah dipasang berhadapan tersebut, tetapi tidak sampai penuh. Kemudian larutan supernatan diisikan ke dalam lubang sampel sebanyak 5 μ L dengan stepper. Selanjutnya sisa *buffer tank* diisikan lagi hingga memenuhi bak elektroforesis dan bak penutup dipasang kembali. Catu daya dihidupkan untuk menjalankan proses elektroforesis dengan arus listrik sebesar ± 100 mA selama 180-200 menit.

Pewarnaan. Proses pewarnaan dilakukan setelah proses elektroforesis, dengan pewarna *EST*, *GOT*, dan *POD*.

Pengamatan gel. Setelah dilakukan proses pewarnaan dan terlihat gambar pola pita pada gel, kemudian dilakukan proses fiksasi (gel diletakkan dalam larutan etanol 60% ditambah akuades dan ditutup kaca lalu dimasukkan ke refrigerator). Tujuan proses fiksasi ini adalah untuk membantu mengawetkan gel dengan cara menghentikan reaksi kimia yang terjadi pada gel.

Pembuatan dendogram. Pola pita isozim hasil elektroforesis diinterpretasikan dalam zimogram, kemudian diubah menjadi data biner, dan digambar dendogramnya. Pengukuran jarak migrasi (*R_f*) diukur dari jarak pita yang tampak dibagi dengan jarak migrasi terjauhnya.

Analisis data

Data morfologi tanaman diuraikan secara deskriptif. Data pola pita isozim dianalisis secara kuantitatif, yaitu berdasarkan muncul tidaknya pita pada gel dan secara kualitatif berdasarkan tebal tipisnya pita yang terbentuk. Korelasi antara jarak genetik berdasarkan karakter morfologi dan kemiripan genetik berdasarkan pola pita isozim dianalisis berdasarkan koefisien korelasi *product-moment* dengan kriteria *goodness of fit* berdasarkan korelasi menurut Rohlf (1993).

Kemiripan genetik antar sampel diuji dengan menggunakan analisis kluster (analisis rataan kelompok) yang hasilnya berupa dendogram atau diagram pohon. Pola pita yang diperoleh dari elektroforesis diterjemahkan dalam sifat kualitatif (berdasarkan ada tidaknya pita pada jarak migrasi tertentu). Pada jarak migrasi tertentu apabila terdapat pita tanpa membedakan tebal dan tipisnya pita yang terbentuk maka diberi angka 1 dan apabila tidak terdapat pita maka diberi kode angka 0. Data biner yang dihasilkan dibuat dalam persamaan matrik (matrik jarak) yang dihitung berdasarkan koefisien *DICE*. Klusterisasi/ pengelompokan dilakukan dengan *UPGMA (Unweighted Pair Group With Arithmetic Mean)* yang dihitung

melalui *SHAN* pada program *NTSYS* (Felsenstein 1985; Rohlf 1993). Dendogram yang terbentuk seperti terlihat pada Gambar 1 dan 3.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakterisasi morfologi

Hasil karakterisasi secara morfologis terhadap tanaman *Xanthosoma* di wilayah Kabupaten Kulonprogo, dari delapan sampel yang diambil dari tiga lokasi berbeda ditemukan empat jenis *Xanthosoma* dengan ciri-ciri seperti pada Tabel 1. Berdasarkan hasil karakterisasi secara morfologi dari ketiga lokasi penelitian, terdapat empat macam *Xanthosoma* spp. yang menunjukkan keragaman ciri.

Kimpul Gendruk

Gendruk memiliki tipe tumbuh *acalaucent*

Daun berbentuk *hastate* dengan posisi terkulai pada ujung tangkai daun. Tepi daun penuh halus, berwarna hijau dan tidak memiliki lekukan. Permukaan daun tidak *glaucous*, permukaan bagian atas mengkilat dan berwarna hijau gelap, sedangkan permukaan bagian bawahnya berwarna hijau sedang. Daun tidak beranekaragam dan tidak memiliki rambut. Irisan melintang ibu tulang daun dan tulang daun lateral muncul pada permukaan atas dan tidak muncul pada permukaan bawah.

Tangkai daun saling berlekatan pada bagian pelepah-nya, 2/3 bagian teratas berwarna hijau terang dan 1/3 bagian terbawah berwarna hijau. Pelepah daun 1/3-2/3 dari panjang tangkai daun, tepi pelepah berwarna merah muda.

Umbi berwarna coklat terang atau coklat medium dan memiliki permukaan halus pada bagian luarnya, sedangkan pada bagian dalamnya berwarna putih. Ujung umbi berwarna merah muda dengan posisi ujungnya berada dibawah tanah. Umbi berbentuk ellips, ovate dan silindris dengan ukuran beragam tergantung lokasi penanamannya.

Kimpul Ireng

Ireng memiliki tipe tumbuh *acalaucent*

Daun berbentuk *hastate* dengan posisi terkulai pada ujung tangkai daun. Tepi daun penuh halus, berwarna ungu dan tidak memiliki lekukan. Permukaan daun bagian atas *glaucous*, tidak mengkilap dan berwarna hijau keunguan, sedangkan warna permukaan daun bagian bawah hijau sedang. Daun tidak beranekaragam dan tidak memiliki rambut.

Irisan melintang ibu tulang daun dan tulang daun lateral muncul pada permukaan atas dan tidak muncul pada permukaan bawah.

Tangkai daun saling berlekatan pada bagian pelepahnya, keseluruhan tangkainya berwarna ungu. Pelepah daun 1/3-2/3 dari panjang tangkai daun, tepi pelepah berwarna ungu seperti tangkai dan pelepahnya.

Umbi berwarna coklat tua dan berambut kasar pada bagian luarnya, sedangkan pada bagian dalamnya berwarna putih keunguan. Ujung umbi berwarna merah muda dengan posisi ujungnya berada dibawah tanah. Umbi berbentuk ellips atau silindris dengan ukuran beranekaragam tergantung lokasi penanamannya.

Kimpul Puteh

Puteh memiliki tipe tumbuh *acalauscent*

Daun berbentuk *sagitate* dengan lobus < 1/8 bagian dari panjang daun dengan posisi daun berbentuk mangkuk pada ujung tangkai daun. Tepi daun penuh berombak, berwarna kuning pucat/krem dan tidak memiliki lekukan. Permukaan daun bagian atas dan bawah tidak mengkilap dan berwarna hijau terang. Daun tidak beranekaragam dan tidak memiliki rambut. Irisan melintang ibu tulang daun dan tulang daun lateral muncul pada permukaan atas dan tidak muncul pada permukaan bawah.

Tangkai daun sedikit berlekatan pada bagian pelepahnya, 2/3 bagian teratas dari tangkainya berwarna hijau terang dan 1/3 bagian terbawah berwarna hijau. Pelepah daun 1/3-2/3 dari panjang tangkai daun, tepi pelepah berwarna hijau seperti tangkai dan pelepahnya.

Jenis Puteh tidak menghasilkan umbi.

Kimpul Mothe

Kimpul ini sangat serupa dengan Puteh tetapi warna tangkai daun (2/3 bagian teratas) hijau, sepertiga sisanya merah/ungu, serta warna bagian dalam cormel kuning.

Dendrogram karakter morfologi

Kesamaan karakter yang teramati dari delapan sampel yang terdiri dari empat jenis *Xanthosoma* dalam penelitian ini dapat menunjukkan kedekatan dalam hubungan kekerabatan yang dimiliki. Oleh karena itu dilakukan pengujian kedekatan dalam hubungan kekerabatan yang dimiliki oleh delapan sampel yang terdiri dari empat jenis *Xanthosoma* tersebut dengan menggunakan dendrogram, seperti terlihat pada Gambar 1.

Dendrogram dari kedelapan sampel yang diuji, pada koefisien kemiripan 65% membentuk tiga kelompok besar yaitu kelompok pertama terdiri dari Gendruk (Galur, Lendah dan Girmulyo) serta Mothe dari Girmulyo, kelompok kedua terdiri dari Ireng yang berasal dari Galur dan Lendah serta kelompok ketiga yaitu Puteh dari Galur dan Lendah. Menurut Cahyarini (2004) jarak kemiripan dapat dikatakan jauh apabila kurang dari 0.60 atau 60%. Sehingga kelompok-kelompok yang terpisah pada jarak 0.65 sebenarnya masih mempunyai kemiripan yang dekat. Pada analisis dendrogram ini, angka 1 atau 100% pada dendrogram menunjukkan bahwa anggota kelompok me-miliki kemiripan sempurna, sedangkan semakin mendekati angka 0 berarti jarak kemiripannya semakin jauh.

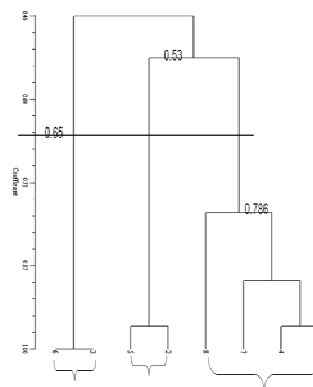
Tabel 1. Karakter morfologi *Xanthosoma spp.* di Galur, Lendah dan Girmulyo, Kabupaten Kulonprogo, Yogyakarta.

Karakter morfologi	Galur		Lendah		Giri- mulyo			
	1	2	3	4	5	6	7	8
<i>Tipe tumbuh</i>								
Acalauscent	√	√	√	√	√	√	√	√
Tegak di atas tanah	-	-	-	-	-	-	-	-
Rebah di atas tanah	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Perlekatan tangkai daun</i>								
Saling berlekatan	√	√	-	√	√	-	√	√
Sedikit berlekatan	-	-	√	-	-	√	-	-
Tidak berlekatan	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Posisi helaian daun</i>								
Tegak	-	-	-	-	-	-	-	-
Bertukulai	√	-	-	√	-	-	√	√
Bentuk mangkuk	-	√	√	-	√	√	-	-
<i>Tepi daun</i>								
Penuh, halus	√	√	-	√	√	-	√	√
Penuh, berombak	-	-	√	-	-	√	-	-
Berlobus, terbagi sebagian	-	-	-	-	-	-	-	-
Terbagi hampir sampai basal	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bentuk daun</i>								
Tidak ada lobus basal	-	-	-	-	-	-	-	-
Hastate	√	√	-	√	√	-	√	√
Sagitate (lobus < 1/8 panjang)	-	-	√	-	-	√	-	-
Sagitate (lobus 1/8-1/4 panjang)	-	-	-	-	-	-	-	-
Sagitate (lobus >1/4 panjang daun)	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Perbandingan panjang/lebar helai daun</i>								
Panjang	53,25	51,5	41,3639	246,528	462,272	5		
Lebar	36,2533	6726,3827	927,922	647,7	53			
<i>Warna tepi daun</i>								
Hijau sepanjang tepi daun	√	-	-	√	-	-	√	√
Tepi daun berwarna bening	-	-	-	-	-	-	-	-
Ungu/merah	-	√	-	√	-	-	-	-
Kuning pucat/krem	-	-	√	-	-	√	-	-

<i>Leaf sinus denuding</i>								
Tidak ada	√	√	√	√	√	√	√	√
Sedikit (<5mm)	-	-	-	-	-	-	-	-
Membelah (5 mm- ~ cm)	-	-	-	-	-	-	-	-
Campuran (beberapa membelah, lainnya tidak)	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Permukaan daun mengkilat</i>								
Tidak ada (0)	-	√	√	-	√	√	√	√
Permukaan atas	√	-	-	√	-	-	-	-
Permukaan bawah	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Permukaan daun glaucous</i>								
Tidak ada (0)	√	-	√	√	-	√	√	√
Permukaan atas	-	√	-	-	√	-	-	-
Permukaan bawah	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Warna permukaan daun bagian atas</i>								
Hijau terang	-	-	√	-	-	√	-	-
Hijau sedang	-	-	-	-	-	-	-	-
Hijau gelap	√	-	-	√	-	-	√	√
Kemerahan/hijau keunguan	-	√	-	-	√	-	-	-
Lainnya	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Warna permukaan daun bagian bawah</i>								
Hijau terang	-	-	√	-	-	√	-	-
Hijau sedang	√	√	-	√	√	-	√	√
Hijau gelap	-	-	-	-	-	-	-	-
Kemerahan/hijau keunguan	-	-	-	-	-	-	-	-
Lainnya	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Keanekaragaman daun</i>								
Tidak ada (0)	√	√	√	√	√	√	√	√
Ada (+)	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pubescence</i>								
Tidak ada (0)	√	√	√	√	√	√	√	√
Berambut (5)	-	-	-	-	-	-	-	-
Berambut lebat (9)	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Irisan melintang ibu tulang daun dan tulang daun lateral</i>								
Hanya di sisi atas daun	√	√	√	√	√	√	√	√
Hanya di sisi bawah daun	-	-	-	-	-	-	-	-
Di kedua sisi daun	-	-	-	-	-	-	-	-
Menonjol di sisi atas daun	-	-	-	-	-	-	-	-
Panjang tangkai daun (cm)	58,8	99,4	51,7	558,8	90,2	54	112,1	133,3
<i>Warna tangkai daun (2/3 bagian teratas)</i>								
Hijau terang	√	-	√	√	-	√	√	-
Hijau	-	-	-	-	-	-	-	√
Merah/ungu	-	√	-	-	√	-	-	-
Hijau bergaris merah/ungu	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Warna tangkai daun (1/3 bagian terbawah)</i>								
Hijau terang	-	-	-	-	-	-	-	-
Hijau	√	-	√	√	-	√	√	-
Merah/ungu	-	√	-	-	√	-	-	√
Hijau bergaris merah/ungu	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Permukaan atas tangkai daun glaucous</i>								
Tidak ada (0)	√	-	√	√	-	√	√	√
Ada (+)	-	√	-	-	√	-	-	-
<i>Panjang tangkai daun berpelepeh</i>								
Pelepeh < 1/3 panjang tangkai	-	-	-	-	-	-	-	-
Pelepeh 1/3-2/3 panjang tangkai	√	√	√	√	√	√	√	√
Pelepeh > 2/3 panjang tangkai	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Warna tepi tangkai daun berpelepeh</i>								
Sama seperti tangkai dan pelepeh	√	√	-	√	√	-	√	√
Lebih terang	-	-	-	-	-	-	-	-

Lebih gelap	-	-	-	-	-	-	-	-
Merah muda/merah/ungu	√	-	-	√	-	-	√	-
<i>Umur panen umbi/cormel</i>								
4-6 bln atau kurang	-	-	-	-	-	-	-	-
7-12 bln	√	√	√	√	√	√	√	√
13-17 bln	-	-	-	-	-	-	-	-
>18 bln	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bentuk cormel</i>								
Membulat	-	-	-	-	-	-	-	-
Ovate	-	-	-	√	-	-	-	-
Silindris	-	√	-	-	-	-	√	-
Ellip	√	-	-	-	√	-	-	-
Campuran	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Ukuran cormel</i>								
Kecil	-	√	-	-	√	-	-	-
Sedang	√	-	-	√	-	-	-	-
Besar	-	-	-	-	-	-	√	√
<i>Warna bagian luar cormel</i>								
Coklat terang atau coklat medium	√	-	-	√	-	-	√	√
Coklat tua	-	√	-	-	√	-	-	-
<i>Warna bagian dalam cormel</i>								
Putih	√	-	-	√	-	-	√	-
Kuning	-	-	-	-	-	-	-	√
Oranye	-	-	-	-	-	-	-	-
Merah muda atau pucat	-	-	-	-	-	-	-	-
Putih keunguan	-	√	-	-	√	-	-	-
<i>Permukaan luar cormel</i>								
Halus	√	-	-	√	-	-	√	-
Berambut kasar	-	√	-	-	√	-	-	-
<i>Warna ujung cormel</i>								
Putih	-	-	-	-	-	-	-	-
Merah muda/merah	√	√	-	√	√	-	√	-
<i>Posisi ujung cormel</i>								
Diatas tanah	-	-	-	-	-	-	-	-
Di bawah tanah	√	√	-	√	√	-	√	-

Keterangan: 1. Gendruk, 2. Ireng, 3. Puteh (Galur); 4. Gendruk, 5. Ireng, 6. Puteh (Lendah); 7. Gendruk, 8. Mothe (Girimulyo).



Gambar 1. Hubungan kekerabatan kedelapan sampel *Xanthosoma* spp. dari tiga lokasi berbeda berdasarkan karakter morfologi. Keterangan: 1. Gendruk, 2. Ireng, 3. Puteh dari Galur; 4. Gendruk, 5. Ireng, 6. Puteh dari Lendah; 7. Gendruk, 8. Mothe dari Girimulyo

Berdasarkan karakter morfologi yang teramati, Puteh dari Galur dan Lendah menunjukkan kemiripan sifat yang sama. Seperti terlihat pada dendogram, keduanya ada pada koefisien kemiripan 100% yang artinya sama persis atau tidak ada bedanya. Apabila dibandingkan dengan jenis *Xanthosoma* lainnya jenis ini membentuk kelompok sendiri dan sedikit memiliki kemiripan dengan jenis lainnya. Jenis ini mengelompok dengan jenis lainnya pada tingkat kemiripan 46%. Ireng memiliki tingkat kemiripan dengan Gendruk pada koefisien 53%, sedangkan Mothe memiliki tingkat kemiripan dengan Gendruk pada koefisien 78.6%.

Pada *Xanthosoma* sejenis yang ditemukan pada lokasi berbeda, tidak menunjukkan karakter morfologi yang berbeda dengan kata lain perbedaan lokasi tidak mempengaruhi bentuk morfologi tanaman. Perbedaan karakter morfologi yang nampak hanya pada ukuran panjang tangkai daun, panjang dan lebar helaian daun, dan ukuran kormel. Sifat-sifat ini berkaitan dengan pertumbuhan dari masing-masing tanaman. Rata-rata *Xanthosoma* yang ditemukan di Girimulyo memiliki ukuran tanaman yang lebih besar, memiliki tangkai daun dan ukuran helaian daun yang lebih besar dibandingkan dengan kedua lokasi lainnya. Cormel yang dihasilkan juga memiliki ukuran yang lebih besar, walaupun dengan umur panen yang sama dengan kedua daerah lainnya. Sifat-sifat ini muncul berkaitan dengan faktor fisik/lingkungan dimana *Xanthosoma* tersebut hidup. *Xanthosoma* di daerah Girimulyo ditanam oleh masyarakat dipekarangan-pekarangan sebagai tanaman sela dibawah pohon perkebunan, sehingga *Xanthosoma* mendapatkan naungan dari tanaman yang berada di atasnya. Di daerah ini *Xanthosoma* sengaja dibudidayakan dan dirawat dengan cukup baik di pekarangan-pekarangan.

Tanaman senantiasa melakukan adaptasi setiap menghadapi cekaman lingkungan. Tanaman menghadapi cekaman naungan akan melakukan strategi untuk penyesuaian. Bentuk penyesuaian tersebut misalnya perubahan karakter-karakter morfologi dan fisiologi tanaman (Djukri 2006). Perubahan karakter ini spesifik misalnya pada kondisi naungan daun meningkat luasnya tetapi lebih tipis (Taiz dan Zeiger 1991). Karakter agronomi yang berkaitan dengan potensi produksi tinggi adalah tanaman yang habitusnya tinggi, daun yang luas dan perakaran yang baik (Sulistiyono *et al.* 2002).

Pada keadaan ternaungi spektrum cahaya yang aktif dalam proses fotosintesis (panjang

gelombang 400-700 nm) menurun. Tanaman akan melakukan penyesuaian untuk meng-efisienkan penangkapan energi cahaya yaitu dengan meningkatkan luas daun agar terpenuhi kebutuhan cahaya yang aktif dalam proses fotosintesis. Bentuk penyesuaian lain adalah meningkatnya tinggi tanaman dan kadar klorofil a dan b (Lambers *et al.* 1998). Berdasarkan hasil penelitian Anggarwulan *et al.* (2008) bahwa perlakuan variasi naungan memberikan pengaruh yang signifikan terhadap tinggi tanaman kimpul yaitu kombinasi perlakuan naungan 75% memberikan tinggi tanaman yang paling baik, sedangkan perlakuan tanpa naungan menghasilkan tinggi tanaman yang rendah. Cahaya memegang peranan yang penting dalam proses fisiologi tanaman, terutama fotosintesis, respirasi dan transpirasi.

Karakterisasi berdasarkan marka isozim

Analisis terhadap enzim EST, GOT, dan POD terhadap kedelapan sampel tanaman *Xanthosoma* ditunjukkan pada Gambar 2.

Esterase (EST)

Berdasarkan analisis isozim dengan pewarna EST pada delapan sampel *Xanthosoma* yang diuji membentuk empat pola pita yang berbeda (Gambar 2). Empat macam pola pita tersebut berbeda pada bentuk dan jarak migrasinya. Jarak migrasi setiap pita dihitung dengan rumus *Rf* (*relative ferguson*) yaitu dengan membandingkan jarak pita yang terbentuk dari setiap sumuran dengan jarak migrasi terjauh (jarak *loading dye*) (Hames dan Rickwood 1990; Julisaniah *et al.* 2008). Pola pita I dengan jarak migrasi yang sama tetapi memiliki bentuk yang berbeda, pada jarak migrasi 0,129, 0,185 dan 0,222 dimiliki oleh sampel 1, 3 dan 7 (kuantitatif dan kualitatif). Pola pita II dengan jarak migrasi 0,129, 0,185, 0,222 dan 0,389 dimiliki oleh sampel 2 dan 5 (kuantitatif dan kualitatif). Pola pita III dengan jarak migrasi 0,129, 0,185 dan 0,333 dimiliki oleh sampel 3 dan 6 (kuantitatif dan kualitatif). Pola pita IV hanya dimiliki oleh sampel 8 memiliki jarak migrasi 0,129, 0,185, 0,241, 0,259, 0,296 dan 0,315.

Sifat-sifat kuantitatif biasanya dikontrol oleh banyak gen dan sangat dipengaruhi oleh faktor lingkungan, sedangkan untuk sifat kualitatif hampir tidak dipengaruhi oleh faktor lingkungan, sehingga faktor kualitatif lebih diutamakan karena berhubungan dengan ada tidaknya pita pada jarak migrasi tertentu yang mencerminkan ada tidaknya asam amino

penyusun enzim yang merupakan produk gen itu sendiri (Setianto 2001). Sedangkan perbedaan tebal tipisnya pita yang terbentuk disebabkan karena perbedaan jumlah dari molekul-molekul yang termigrasi, pita tebal merupakan fiksasi dari beberapa pita. Molekul yang memiliki kekuatan ionik besar akan termigrasi lebih jauh dari pada yang berkekuatan ionik rendah (Cahyarini 2004).

Glutamat Oksaloasetat Transaminase (GOT)

Berdasarkan analisis isozim dengan pewarna GOT pada delapan sampel *Xantosoma* yang diuji membentuk delapan pola pita yang berbeda (Gambar 2). Pola pita I pada jarak migrasi 0,32, 0,42 dan 0,44 dimiliki oleh sampel 1. Pola pita II pada jarak migrasi 0,32, 0,4, 0,44 dan 0,46 dimiliki oleh sampel 2. Pola pita III pada jarak migrasi 0,38, 0,42, 0,56 dan 0,58 dimiliki oleh sampel 3. Pola pita IV pada jarak migrasi 0,32, 0,42, 0,440,46, 0,66 dan 0,68 dimiliki oleh sampel 4. Pola pita V pada jarak migrasi 0,32, 0,42, 0,44 dan 0,46 dimiliki oleh sampel 5. Pola pita VI pada jarak migrasi 0,38, 0,42 dan 0,58 dimiliki oleh sampel 6. Pola pita VII pada jarak migrasi 0,3, 0,42, 0,44, 0,46, 0,64 dan 0,66 dimiliki oleh sampel 7. Pola pita VIII pada jarak migrasi 0,32, 0,34, 0,36, 0,4, 0,44, 0,46, 0,48, 0,62 dan 0,64 dimiliki oleh sampel 8.

Peroksidase (POD)

Berdasarkan analisis isozim dengan pewarna POD pada delapan sampel *Xantosoma* yang diuji membentuk tujuh pola pita yang berbeda (Gambar 2). Pola pita I pada jarak migrasi 0,654,

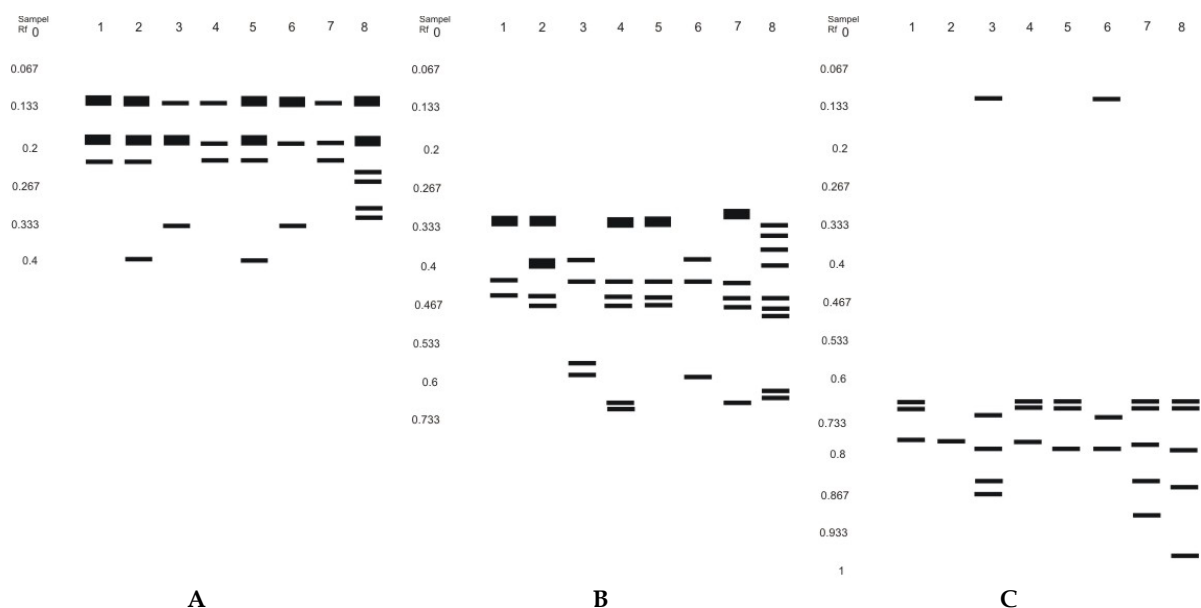
0,673 dan 0,75 dimiliki oleh sampel 1 dan 4. Pola pita II pada jarak migrasi 0,75 dimiliki oleh sampel 2. Pola pita III pada jarak migrasi 0,096, 0,712, 0,769, 0,846 dan 0,885 dimiliki oleh sampel 3. Pola pita IV pada jarak migrasi 0,673 dan 0,679 dimiliki oleh sampel 5. Pola pita V pada jarak migrasi 0,096, 0,712, 0,769 dan 0,904 dimiliki oleh sampel no 6. Pola pita VI pada jarak migrasi 0,673, 0,75 dan 0,846 dimiliki oleh sampel 7. Pola pita VII pada jarak migrasi 0,673, 0,769, 0,865 dan 0,966 dimiliki oleh sampel 8.

Kemiripan genetik berdasarkan marka isozim

Dendogram berdasarkan pola pita EST

Berdasarkan hasil dendogram pada Gambar 3 yang diperoleh dari analisis kluster (kelompok) yang digunakan untuk mengetahui kemiripan dari sampel yang diuji, pada jarak 0,65 atau 65% menunjukkan tiga kelompok besar. Pada analisis dendogram ini angka satu pada dendogram menunjukkan anggota kelompok memiliki kemiripan sempurna, sedangkan semakin mendekati angka nol berarti jarak kemiripannya semakin jauh.

Pada jarak kemiripan 65% terbagi dalam tiga kelompok besar yaitu kelompok I terdiri dari sampel 1, 4, 7, 2 dan 5. Kelompok II terdiri dari sampel 3 dan 6, serta kelompok III yaitu sampel 8. Pada jarak kemiripan 86% terjadi pemisahan pada kelompok I. Kelompok I memisah menjadi dua kelompok lagi yaitu kelompok Ia terdiri dari sampel 1, 4 dan 7 serta kelompok Ib terdiri dari sampel 2 dan 5. Dengan demikian berdasarkan



Gambar 2. Zimogram kedelapan sampel *Xantosoma* spp. dari tiga lokasi berbeda berdasarkan pewarna: A. EST, B. GOT, C. POD. Keterangan: 1. Gendruk, 2. Ireng, 3. Puteh dari Galur; 4. Gendruk, 5. Ireng, 6. Puteh dari Lendah; 7. Gendruk, 8. Mothe dari Girmulyo

keragaman pola pita EST yang terbentuk pada jarak kemiripan 65% dapat dipisahkan antara kelompok I (Gendruk dan Ireng) dengan kelompok II yaitu Puteh dan kelompok III yaitu Mothe. Pada jarak ini belum dapat membedakan antara Gendruk dan Ireng, keduanya dapat dibedakan pada jarak kemiripan 86%. Berdasarkan hasil pengelompokan tersebut, tidak dapat membedakan jenis sampel yang sama tetapi berasal dari lokasi yang berbeda. Gendruk dari ketiga lokasi yang berbeda ada dalam satu kelompok, Ireng dari dua lokasi yang berbeda membentuk dalam satu kelompok, demikian juga Puteh dari dua lokasi berbeda juga membentuk satu kelompok.

Dendogram berdasarkan pola pita GOT

Berdasarkan hasil dendogram yang diperoleh dari analisis kluster (kelompok) yang digunakan untuk mengetahui kemiripan dari sampel yang diuji, pada jarak 0,65 atau 65% menunjukkan lima kelompok. Kelompok I terdiri dari sampel 1, 5 dan 4, kelompok II terdiri dari sampel 2, kelompok III terdiri dari sampel 7, kelompok IV terdiri dari sampel 8 dan kelompok V terdiri dari sampel 3 dan 6. Dendogram berdasarkan pola pita *GOT* ini dapat memisahkan Puteh yang berasal dari Galur dan Lendah dari kelompok lainnya pada jarak kemiripan yang relatif kecil yaitu 17%. Mothe dari Girimulyo memisah dengan Gendruk dan Ireng pada jarak 42,2%. Pada jarak kemiripan 73,4% Gendruk dari Lendah memisah dari kelompok I, dan Gendruk dari Galur dan Ireng dari Lendah memisah pada jarak kemiripan 86%.

Dendogram berdasarkan pola pita peroksidase (POD)

Berdasarkan hasil dendogram yang diperoleh dari analisis kluster (kelompok) yang digunakan untuk mengetahui kemiripan dari sampel yang diuji, pada jarak 0,65 atau 65% menunjukkan lima kelompok. Kelompok I terdiri dari sampel 1, 4 dan 7, kelompok II terdiri dari sampel 2, kelompok III terdiri dari sampel 3, kelompok IV terdiri dari sampel 6 dan kelompok V terdiri dari sampel 5 dan 8. Dendogram berdasarkan pola pita *POD* dapat memisahkan Gendruk yang berasal dari Galur, Lendah dan Girimulyo dari kelompok lainnya pada jarak kemiripan 65%. Pada jarak kemiripan ini Ireng dari Galur, Puteh dari Galur dan Lendah memisah dari kelompok lainnya masing-masing membentuk kelompok sendiri yaitu kelompok II, III dan IV dengan anggota tunggal. Tetapi, pada jarak kemiripan 57% Puteh dari Galur dan Lendah bergabung

dalam satu kelompok. Pada jarak kemiripan 65% Ireng dari Lendah berpisah dengan Ireng dari Galur dan bergabung dengan Mothe dari Girimulyo.

Hubungan karakterisasi morfologi dan marka isozim

Korelasi antara jarak genetik berdasarkan karakter morfologi dan kemiripan genetik berdasarkan pola pita isozim dianalisis berdasarkan koefisien korelasi *product-moment* dengan kriteria *goodness of fit* berdasarkan korelasi menurut Rohlf (1993). Korelasi antara jarak genetik berdasarkan karakter morfologi dan kemiripan genetik berdasarkan pola pita isozim seperti pada Tabel 2.

Korelasi antara data morfologi dan data pola pita Isozim *EST*, *GOT* dan *POD* berturut-turut berada pada level 0,967918, 0,937113 dan 0,892721. Dengan demikian berarti bahwa hasil karakterisasi berdasarkan karakter morfologi dan hasil karakterisasi berdasarkan marka isozim *EST* serta *GOT* memiliki korelasi yang sangat baik. Sedangkan hasil karakterisasi berdasarkan karakter morfologi dan hasil karakterisasi berdasarkan marka isozim *POD* memiliki korelasi yang baik. Karakterisasi *Xanthosoma* berdasarkan karakter morfologi konsisten dengan karakterisasi berdasarkan marka isozim.

Tabel 2. Korelasi antara jarak genetik berdasarkan karakter morfologi dan pola pita isozim

Karakter yang dikorelasikan	Level	Kriteria
Morfologi dan <i>EST</i>	0,967918	sangat baik
Morfologi dan <i>GOT</i>	0,937113	sangat baik
Morfologi dan <i>POD</i>	0,892721	baik

Dendogram hubungan kekerabatan *Xanthosoma* spp. dari tiga lokasi berbeda berdasarkan karakter morfologi, pewarna *EST*, *GOT* dan *POD* (Gambar 3), menunjukkan bahwa *Xanthosoma* dengan jenis yang sama tetapi berasal dari daerah yang berbeda tidak menunjukkan perbedaan karakter pola pitanya. Pada jarak kemiripan 65% terbagi dalam tiga kelompok besar yaitu kelompok I terdiri dari sampel 1, 4, 7 dan 8. Kelompok II terdiri dari sampel 2 dan 5, serta kelompok III yaitu sampel 3 dan 6. Pada jarak kemiripan 80% terjadi pemisahan pada kelompok I. Kelompok I memisah menjadi dua kelompok lagi yaitu kelompok Ia terdiri dari sampel 1, 4 dan 7 serta kelompok Ib terdiri dari sampel 8. Dengan demikian terlihat jelas bahwa

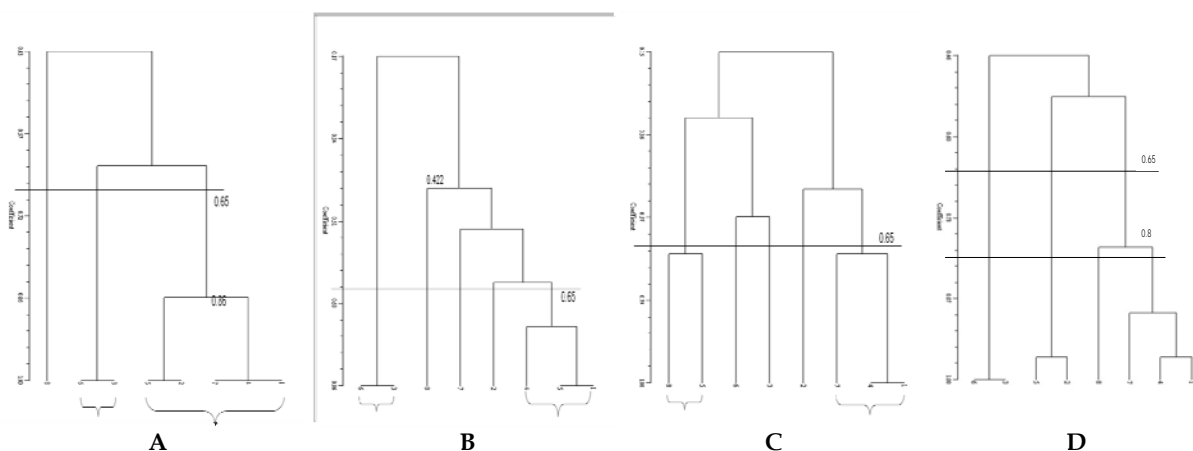
Gendruk dari ketiga lokasi mengelompok dalam satu kelompok tersendiri dan berbeda dengan kelompok lainnya. Demikian juga Mothe dari Girimulyo mengelompok dalam satu kelompok tersendiri dan cenderung memiliki hubungan yang lebih dekat Gendruk. Puteh dari Galur dan Lendah membentuk kelompok sendiri dan memiliki hubungan yang jauh dengan kelompok lainnya. Ireng dari Galur dan Lendah membentuk kelompok sendiri.

Berdasarkan hasil karakterisasi diatas menunjukkan bahwa setiap jenis *Xanthosoma* yang sama walaupun ditanam pada lokasi yang berbeda tetap mengekspresikan sifat yang sama. Hal ini dapat dipahami bahwa ketiga tempat yang dipilih sebagai lokasi pengambilan sampel masih dalam satu kawasan yaitu di daerah Kulonprogo, sehingga sangat dimungkinkan bahwa masing-masing jenis *Xanthosoma* yang ada di ketiga lokasi tersebut adalah satu tetua dan tidak ada perbedaannya secara genetis. Faktor genetis lebih kuat mempengaruhi ekspresi fenotip bila dibandingkan dengan faktor lingkungannya, sehingga walaupun ditanam pada lokasi yang berbeda tetap mengekspresikan sifat yang sama. Hal ini didukung dengan hasil karakterisasi berdasarkan sifat morfologinya yang menunjukkan bahwa jenis *Xanthosoma* yang sama ditemukan pada lokasi yang berbeda tetap menampakkan ciri morfologi yang sama.

Keragaman jenis tumbuhan merupakan manifestasi kemampuan genetik dalam menanggapi potensi lingkungan yang ada. Tanggapan ini dapat dipandang dari dua segi yaitu berapa nilai lingkungan yang diperlukan untuk mewujudkan potensinya dan bagaimana tumbuhan menanggapi nilai lingkungan yang ada. Dalam

hal ini setiap jenis tanaman *Xanthosoma* mampu menanggapi setiap nilai lingkungan dengan tetap survive. Dengan kata lain setiap jenis *Xanthosoma* ini memiliki kemampuan adaptasi terhadap lingkungan yang cukup luas, mampu bertahan pada beberapa lingkungan yang berbeda. Spesies (jenis) tumbuhan dikatakan memiliki adaptasi (penyesuaian) yang luas manakala dapat menyelesaikan satu siklus hidupnya pada lingkungan yang berbeda-beda (Odum dan Barrett 2005).

Enzim *EST* memiliki sifat umum dan berlaku pada semua jenis tanaman bahwa *EST* pada tanaman merupakan enzim hidrolitik yang berfungsi melakukan pemotongan ester sederhana pada asam organik, asam anorganik alkohol dan fenol serta mempunyai berat molekul rendah dan mudah larut (Cahyarini 2004). Pola pita isozim *GOT* yang terbentuk pada pengujian delapan sampel menunjukkan delapan pola pita yang berbeda. Masing-masing sampel memiliki pola pita yang berbeda dengan sampel lainnya. Pola pita isozim *POD* yang terbentuk pada pengujian delapan sampel menunjukkan tujuh pola pita yang berbeda. Masing-masing sampel memiliki pola pita yang berbeda dengan sampel lainnya kecuali sampel 1 dan 4 memiliki pola pita yang sama. Peroksidase adalah enzim oksidoreduktase yang berperan untuk oksidasi substrat sambil mereduksi H_2O_2 menjadi H_2O . Rothe (1994) mengatakan bahwa isozim *POD* tersebar luas khususnya pada tanaman dan terdapat dalam jumlah yang banyak. Dengan adanya hidrogen peroksida (H_2O_2) mengkatalis oksidasi fenol (AH_2) dan aromatic amines (AH_2) sesuai reaksi berikut: Enzim- $H_2O_2 + AH_2 \rightarrow$ enzim + A + 2 H_2O .



Gambar 3. Hubungan kekerabatan kedelapan sampel *Xanthosoma* spp. dari tiga lokasi berbeda berdasarkan karakter pola pita isozim. A. *EST*, B. *GOT*, C. *POD*, D. Gabungan ketiganya. Keterangan: 1. Gendruk, 2. Ireng, 3. Puteh dari Galur; 4. Gendruk, 5. Ireng, 6. Puteh dari Lendah; 7. Gendruk, 8. Mothe dari Girimulyo

Peroksidase memiliki spektrum yang luas dan memiliki peran yang sangat penting dalam proses fisiologi tanaman. Enzim ini dapat diisolasi dan tersebar pada sel atau jaringan tanaman terutama pada jaringan tanaman yang mengalami perkembangan (Butt 1980; Hartati 2001). *POD* pada tanaman merupakan protein yang mengkatalis oksidasi H_2O_2 dengan berbagai macam substrat. Beberapa fungsi *POD* pada tanaman diantaranya adalah pada pembentukan kayu, metabolisme auksin (Gaspar *et al.* 1991; Groppa 1999), respon terhadap stress lingkungan (Castillo dan Reppin 1986; Esaki *et al.* 1996) dan sebagai pertahanan dalam melawan patogen (Lagrimi dan Rothstein 1987; Mohan dan Kolattukudy 1990).

KESIMPULAN

Tidak ada keragaman karakter morfologi pada setiap jenis *Xanthosoma* yang ditemukan pada lokasi yang berbeda. Tidak ada keragaman pola pita isozim *EST* pada setiap jenis *Xanthosoma* yang ditemukan pada lokasi yang berbeda. Terdapat keragaman pola pita isozim *GOT* pada setiap jenis *Xanthosoma* yang ditemukan pada lokasi yang berbeda. Masing-masing sampel memiliki pola pita yang berbeda dengan sampel lainnya. Terdapat keragaman pola pita isozim *POD* pada setiap jenis *Xanthosoma* yang ditemukan pada lokasi yang berbeda. Masing-masing sampel memiliki pola pita yang berbeda dengan sampel lainnya kecuali sampel 1 dan 4 memiliki pola pita yang sama. Ada keragaman yang relevan antara karakter morfologi dan analisis isozim. Karakterisasi *Xanthosoma* berdasarkan karakter morfologi konsisten dengan karakterisasi berdasarkan marka isozim *EST*, *GOT* dan *POD*.

DAFTAR PUSTAKA

- Anggarwulan E, Solichatun, W Mudyantini. 2008. Karakter fisiologi kimpul (*Xanthosoma sagittifolium* (L.) Schott) pada variasi naungan dan ketersediaan air. *Biodiversitas* 9 (4): 264-268.
- Butt VS. 1980. Direct oxidases and related enzymes. In Stumpfand EK, Conn EE (eds). *The biochemistry of plants*. Vol. 2. Academic Press. New York.
- Cahyarini RD, Yunus A, Purwanto E. 2004. Identifikasi keragaman genetik beberapa varietas lokal kedelai di Jawa berdasarkan analisis isozim. *Agrosains* 6 (2): 79-83.
- Castillo FJ, Greppin H. 1986. Balance between anionic and cationic extracellular peroxidase activities in Sedum album leaves after ozone exposure. Analysis by high performance liquid chromatography. *Physiologia Plantarum* 68: 201-208.
- Djukri. 2006. Karakter tanaman dan produksi umbi talas sebagai tanaman sela di bawah tegakan karet. *Biodiversitas* 7 (3): 256-259.
- Esaki B, Tsugita S, Matsumoto H. 1996. Expression of a moderately anionic peroxidase is induced by aluminum treatment in tobacco cells: Possible involvement of peroxidase isozymes in aluminum ion stress. *Physiologia Plantarum* 96: 21-28
- Felsenstein J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* 39: 783-791.
- Gaspar T, Penel C, Hagege D, Greppin H. 1991. Peroxidase in plant growth, differentiation, and development processes. In: Lobarzewski J, Greppin H, Penel C, Gaspar T (eds) *Biochemical, molecular, and physiological aspects of plant peroxidases*. University of Geneva. Geneva.
- Groppa MD, Tomaro ML, Fernández ME. 1999. Activity and expression of peroxidases from sunflower: effect of development. *Rev Bras Fisiol Vegetal* 11(1): 55-59.
- Hames BD, Rickwood D. 1990. *A practical approach: gel electrophoresis protein*. Robert E Krieger. Huntington.
- Hartati NS, Mulyaningsih ES, Sudarmonowati E. 2001. Peroxidase in mature plants and seedlings of *A. mangium*, *Paraserianthes falcataria* and *Glycine max*. *Annales Bogorienses* 8 (1): 17-23.
- Julisaniah NI, Sulistyowati L, Sugiharto AN. 2008. Analisis kekerabatan mentimun (*Cucumis sativus* L.) menggunakan metode RAPD-PCR dan isozim. *Biodiversitas* 9 (2): 99-102.
- Kusumo S, Khasanah M, Moeljopawiro S. 2002. Panduan karakterisasi dan evaluasi plasma nutfah talas. Departemen Pertanian Badan Penelitian dan Pengembangan pertanian Komisi Nasional Plasma Nutfah. Jakarta.
- Lagrimini LM, Rothstein S. 1987. Tissue specificity of tobacco peroxidase isozymes and their induction by wounding and tobacco mosaic virus infection. *Plant Physiol* 84: 438-442
- Lambers H, Chapin FS, Pons TL. 1998. *Plant physiological ecology*. Springer. New York.
- Mohan R, Kolattukudy PE. 1990. Differential activation of expression of a suberization-associated anionic peroxidase gene in near-isogenic resistant and susceptible tomato lines by elicitors of *Verticillium albo-atrum*. *Plant Physiol* 92: 276-280.
- Odum E, Barrett GW. 2005. *Fundamental of ecology*. 5th ed. WB Saunders. Belmont, CA.
- Rohlf EJ. 1993. *NTSYS-pc: numerical taxonomy and multivariate analysis system*, version 1.80. Applied Biostatistics Inc. Setauket, New York.
- Rothe GM. 1994. *Electrophoresis of enzymes*. Springer. Berlin.
- Setianto A. 2001. Karakterisasi jeruk besar (*Citrus grandis* (L.) Obsbeck) di Kecamatan Jepon dan Jiken, Kabupaten Blora berdasarkan penanda isozim dan morfologi buah. [Tesis S1]. Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Sulistiyono E, Sopandie D, Chozin MA, Suwarno. 1999. Adaptasi padi gogo terhadap naungan: pendekatan morfologi dan fisiologi. *Komunikasi Pertanian* 4 (2): 62-68.
- Suranto. 1991. *Studies of population variation in species of Ranunculus*. [Thesis]. Departement of Plant Science, University of Tasmania. Hobart
- Suranto. 2000. Electrophoresis studies of *Ranunculus triplodontus* populations. *Biodiversitas* 1 (1): 1-7.
- Suranto. 2001. Study on *Ranunculus* population: isozymic pattern. *Biodiversitas* 2 (1): 85-91.
- Taiz L, Zeiger E. 1991. *Plant physiology*. Benyamin/Cumming. Tokyo.
- Tjitrosoepomo G. 2002. *Taksonomi tumbuhan Spermatophyta*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.