

Aplikasi Teknologi Marka Molekuler untuk Verifikasi Identitas Genetik Varietas Sayuran Komersial

Bahagiawati, E.M. Septiningsih, M. Yunus, J. Prasetyono, A. Dadang, dan Sutrisno

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian

Jl. Tentara Pelajar 3A, Bogor 16111

Naskah diterima tanggal 4 April 2005 dan disetujui untuk diterbitkan tanggal 25 Mei 2005

ABSTRAK. Salah satu syarat yang harus dipenuhi agar suatu varietas dapat disebut varietas baru dalam rangka perlindungan varietas tanaman adalah varietas tersebut harus berbeda dari varietas-varietas yang ada sebelumnya. Salah satu cara yang dapat digunakan untuk mendeteksi adanya perbedaan adalah teknik marka molekuler. Penelitian ini bertujuan untuk memverifikasi perbedaan genetik dari beberapa tanaman sayuran yang dikomersialkan, yaitu tiga set varietas tomat, dua set varietas cabai merah, dan satu set varietas terong yang diproduksi oleh dua produsen benih berbeda yang disinyalir mempunyai kesamaan genetik. Penelitian ini dilakukan di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian di Bogor dari Juni s/d September 2004. Metode yang digunakan adalah PCR dengan menggunakan marka mikrosatelit yang dielektroforesis pada gel poliakrilamida. Hasil penelitian menunjukkan bahwa benih-benih tomat, cabai merah, dan terong yang diverifikasi tersebut adalah sama secara genetik dengan kesamaan genetik >90%.

Kata kunci: Sayuran; Marka mikrosatelit; Perlindungan varietas tanaman; Kesamaan genetik

ABSTRACT. Bahagiawati, E.M. Septiningsih, M. Yunus, J. Prasetyono, A. Dadang, and Sutrisno. 2005. **Application of molecular marker technique to verify genetic identity of some commercial vegetable varieties.** One of requirements for a new variety in terms of plant variety protection is that the variety must be distinct from the previous varieties. One of the strategies to detect the distinctness is by using molecular marker technology. The objective of this experiment was to verify the distinctness of some commercial vegetable varieties e.g. three set tomatoes, two set peppers and one set eggplant varieties produced by two different seed producers which were suspected to be genetically similar. This experiment was conducted at Indonesian Agricultural Research and Development Center for Biotechnology and Genetic Resources, Bogor, from June to September 2004. The method employed was PCR-based micro-satellite markers run using polyacrylamide gel electrophoresis. The results of this experiment showed that the tested varieties of tomato, pepper, and egg plant were genetically identical at genetic similarity >90%.

Keywords: Vegetables; Microsatellite marker; Plant variety protection; Genetic similarity

Penggunaan varietas unggul bermutu merupakan salah satu syarat bagi tercapainya produksi tinggi dalam bidang pertanian. Untuk ini diperlukan suatu jaminan tentang kemurnian benih sesuai dengan mutu yang diinformasikan oleh produsen. Benih-benih tersebut diproduksi oleh produsen benih dengan pengawasan pemulia tanaman. Mengingat usaha produksi benih bermutu ini memerlukan investasi yang besar, waktu panjang, dan keahlian khusus maka diperlukan suatu jaminan bagi pemulia dan produsen benih agar benihnya tidak dipalsukan oleh produsen/pemulia lainnya tanpa izin. Indonesia telah mempunyai Undang-Undang Perlindungan Varietas Tanaman, yaitu Undang-Undang No. 29/2000 untuk melindungi hak kekayaan intelektual dan meningkatkan gairah produsen benih dan pemulia tanaman. Undang-undang ini juga mempunyai

dampak terhadap konsumen, yaitu hak untuk mendapatkan benih bermutu sesuai dengan informasi yang diberikan produsen.

Untuk mendaftarkan suatu varietas baru terdapat persyaratan yang harus dipenuhi. Di luar negeri persyaratan tersebut dikenal dengan istilah *DUS*, yaitu *distinctness*, *uniformity*, dan *stability* yang jika diterjemahkan ke dalam bahasa Indonesia menjadi varietas tersebut harus berbeda dari varietas sebelumnya, seragam, dan stabil. Salah satu cara yang dapat digunakan untuk mengetahui suatu varietas berbeda dengan varietas lain sebelumnya adalah dengan membedakan varietas tersebut berdasarkan jarak genetiknya. Marka molekuler ini merupakan teknologi yang efektif untuk tujuan tersebut, karena dapat menunjukkan variasi genetik dan tidak dipengaruhi oleh variasi lingkungan (Staub *et al.* 1996). Salah satu marka

molekuler yang sering dipergunakan akhir-akhir ini adalah marka mikrosatelit. Mikrosatelit adalah sekuen DNA sederhana, terdiri dari 2-4 basa yang berulang-ulang sehingga sering disebut juga dengan *simple sequence repeats* (SSRs) (Jacob *et al.* 1991) atau *short tandem repeats* (STS) (Edwards *et al.* 1991). Urutan berulang-ulang tersebut membentuk motif yang unik untuk suatu jenis organisme. Mikrosatelit banyak dijumpai pada genom *eukariot* dan umumnya terdistribusi secara merata pada genom organisme tertentu. Marka mikrosatelit ini bersifat kodominan dan memiliki tingkat keragaman alel yang tinggi serta mudah, cepat, dan ekonomis dalam aplikasinya karena berdasarkan teknik *polymerase chain reaction* (PCR).

Beberapa penelitian telah dilakukan untuk mengetahui tingkat perbedaan genetik pada tanaman menggunakan marka mikrosatelit, misalnya pada tanaman cabai (Nagy *et al.* 1998; Lee *et al.* 2004), tomat (Smulders *et al.* 1997; Bredemeijer *et al.* 2002; He *et al.* 2003), dan terong (Sanwen *et al.* 2000; Nunome *et al.* 2003). Dengan kemampuan ini, marka mikrosatelit dapat digunakan untuk mengidentifikasi perbedaan suatu varietas tanaman (Vosman *et al.* 2001; Smith & Register 1998), sehingga bermanfaat dalam memproteksi varietas-varietas tanaman yang dihasilkan dari suatu program pemuliaan. Menurut UPOV (*union pour la protection des obtentions vegetales* atau *The International Union for the Protection of New Varieties of Plants*), marka molekuler dapat digunakan sebagai data pelengkap (*complementary traits*) untuk menyatakan ada tidaknya perbedaan antara varietas yang satu dengan yang lainnya (van Eeuwijk & Baril 2001).

Penelitian ini bertujuan untuk memverifikasi beberapa benih varietas tomat, cabai, dan terong dari dua produsen benih yang berbeda yang diduga sama berdasarkan tingkat kesamaan genetik (pola pita DNA) dengan mempergunakan marka mikrosatelit.

BAHAN DAN METODE

Varietas-varietas yang diverifikasi pada penelitian ini adalah tiga set varietas tomat, dua set varietas cabai merah, dan satu set varietas terong. Tiap set terdiri dari varietas yang berasal dari dua produsen benih yang berbeda. Secara morfologi setiap set varietas yang diuji adalah sama. Untuk

mengetahui varietas hibrida berasal dari induk yang sama, maka digunakan juga varietas tetua dari tiap varietas yang berasal dari salah satu produsen benih. Penelitian ini juga memakai beberapa varietas komersial lainnya baik tomat, cabai, dan terong sebagai referensi. Varietas-varietas yang dipergunakan tercantum pada Lampiran 1, 2, dan 3. Varietas referensi diperlukan untuk mengetahui tingkat polimorfisme dari tiap primer yang dipakai dan untuk mengetahui besar tingkat kesamaan genetik di antara sesama varietas yang diuji dibandingkan dengan varietas-varietas komersial yang beredar dipasaran.

Primer-primer yang digunakan berasal dari *in-vitro*gen. Untuk tomat, primer yang dipakai adalah dari LEaat001, LEaat002, LEaat006, LEaat008, LEaat015, LEaat018, LEct003, LEct004, LEga003, LEga004, LEga007, LEGata002, LETa003, LETa014, LETa016, LETa019, LETa020, LETa023, LETa024, dan LETat002. Sekuen dari tiap primer ini dapat dilihat pada He *et al.* (2003). Untuk tanaman cabai merah digunakan primer sebagai berikut Hpms1-1c, Hpms1-5, Hpms1-6, Hpms1-111, Hpms 1-143, Hpms1-145, Hpms1-148, Hpms1-168, Hpms1-172, Hpms1-274, Hpms2-2h, Hpms2-13, Hpms CaSIG19, CAN130829, AF244121, CAN010950, AF039662, dan CM0005. Sekuen dari tiap primer ini dapat dilihat pada Lee *et al.* (2004). Untuk terong, primer-primer yang digunakan adalah EM107, EM114, EM117, EM119, EM120, EM126, EM127, EM128, EM131, EM133, EM134, EM135, EM140, EM141, EM145, EM146, EM151, dan EM155. Sekuen dari tiap primer dapat dilihat pada Nunome *et al.* (2003).

Penanaman benih untuk pengujian

Benih-benih setiap varietas dikecambahkan di dalam cawan petri yang berisi kertas saring yang dibasahi dengan larutan KNO₃ 0,1%. Kecambah kemudian dipindahkan ke dalam bak plastik berukuran 25 x 20 x 5 cm yang berisi campuran tanah, pasir, dan pupuk kandang dengan perbandingan 1:1:1. Tanaman dipelihara agar dapat menghasilkan daun untuk ekstraksi DNA.

Ekstraksi DNA

DNA diisolasi dari daun atau biji bila tanaman tidak tumbuh atau kualitas DNA dari sampel daun tidak cukup baik dengan menggunakan metode Dellaporta yang dimodifikasi (Dellaporta *et al.*

1983). Kualitas dan kuantitas DNA yang dihasilkan dicek dengan elektroforesis DNA contoh dalam gel agarose 1% yang kemudian dianalisis menggunakan alat ChemiDoc (Bio-Rad) dan 1 DNA dengan konsentrasi yang berbeda sebagai standar.

Proses PCR

Primer-primer yang digunakan untuk tiap varietas tanaman merupakan primer-primer yang menunjukkan persentase polimorfik yang tinggi berdasarkan informasi dari hasil penelitian sebelumnya. Untuk tomat, primer yang digunakan sebanyak 20 pasang primer dari sejumlah pasang primer yang digunakan oleh He *et al.* (2003). Untuk cabai digunakan 20 pasang primer dari sejumlah pasang primer yang digunakan oleh Lee *et al.* (2004). Untuk terong digunakan 18 pasang primer yang pernah digunakan oleh Nunome *et al.* (2003). Reaksi PCR dilakukan dengan total volume 20 ml yang mengandung 1X buffer PCR {10 mM tris-HCl (pH 8,3), 50 mM KCl, 1,5 mM MgCl₂, 0,01% gelatin}, 100 mM dNTPs (dATP, dCTP, dGTP, dan dTTP), 0,5 mM primer (*forward* dan *reverse*), 50 ng DNA, dan 1 unit Taq DNA polimerase.

Profil program PCR yang digunakan untuk setiap primer dalam penelitian ini mengikuti profil yang diberikan oleh He *et al.* (2003) untuk tomat, Lee *et al.* (2004) untuk cabai, dan Nunome *et al.* (2003) untuk terong.

Visualisasi hasil PCR

Visualisasi hasil PCR menggunakan metode elektroforesis pada gel poliakrilamid 5% dengan pewarnaan *silver staining*.

Analisis dan interpretasi data

Tiap pita DNA yang terbentuk dari hasil amplifikasi dianggap sebagai satu karakter. Semua pita DNA dengan laju migrasi yang sama diasumsikan sebagai lokus yang homolog. Data profil DNA diterjemahkan ke dalam data biner dengan ketentuan nilai nol (0) berarti tidak ada pita dan satu (1) berarti ada pita DNA pada satu posisi sama dari beberapa individu yang dibandingkan. Data ini selanjutnya dianalisis mengikuti metode Nei & Li (1979). Untuk analisis klaster/kelompok berdasarkan metode *unweighted pair group method arithmetic* (UPGMA) melalui program

numerical taxonomy and multivariate system (NT-SYS) versi 2,1 (Rohlf 1993). Interpretasi dilakukan dengan mengacu pada metode yang digunakan oleh ASSINSEL (*The International Association of Plant Breeders for the Protection of Plant Varieties*) dalam menetapkan kesamaan genetik pada tanaman jagung di mana tanaman dianggap sama apabila mempunyai kesamaan genetik di atas 90% (van Eeuwijk & Baril 2001).

HASIL DAN PEMBAHASAN

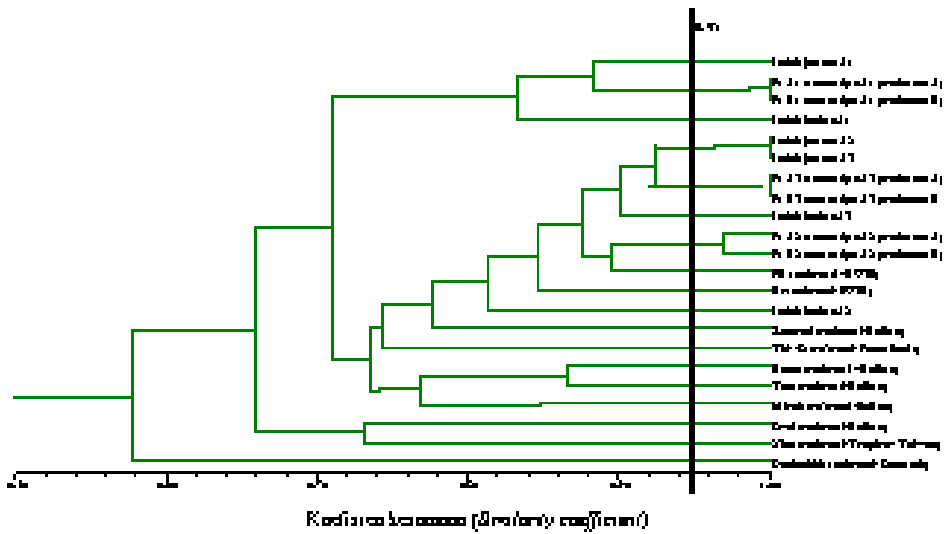
Tomat

Semua varietas tomat yang diuji, yaitu sebanyak 22 varietas, menghasilkan produk PCR. Namun dua primer dari total 20 primer yang digunakan tidak dapat menghasilkan produk PCR pada semua varietas yang diuji, selebihnya yaitu 18 primer menghasilkan produk PCR yang kemudian dianalisis dengan NT-SYS 2.1.

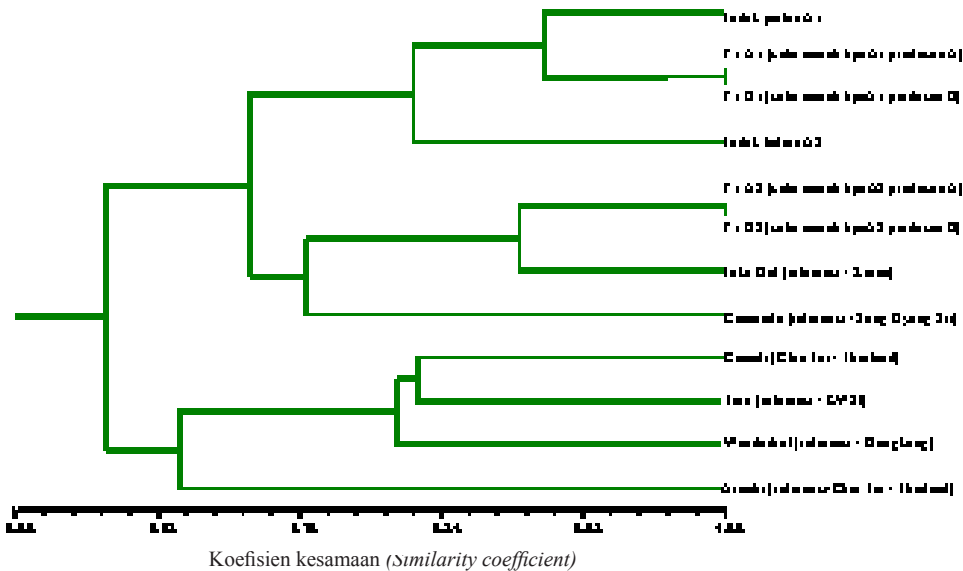
Gambar 1 memperlihatkan dendrogram tanaman tomat yang diteliti. Gambar ini menginformasikan bahwa dua set varietas tomat yang diverifikasi, yaitu set 1: tomat A1 F1 (produsen A) dan tomat B1 F1 (produsen B) adalah sama, demikian juga varietas tomat set 3 yaitu tomat A3 F1 (produsen A) dan tomat B3 F1 (produsen B). Perbedaan sedikit terlihat pada varietas tomat set 2, yaitu tomat A2 F1 (produsen A) dan tomat B2 F1 (produsen B). Dari Gambar 1 terlihat bahwa kedua varietas yang dievaluasi pada penelitian ini menunjukkan kesamaan genetik sebesar 97%, yang dapat dikatakan sama secara genetik.

Cabai merah

Tidak semua varietas cabai merah yang diuji menghasilkan produk PCR. Varietas cabai merah yang tidak menghasilkan produk PCR, di antaranya adalah tetua betina cabai merah A1 dan tetua jantan cabai merah A2. Hanya 12 varietas yang dapat dianalisis dengan NT-SYS untuk dibuat dendrogram kesamaan genetik. Pemilihan sampel cabai yang dipakai adalah sampel-sampel yang apabila lebih dari 50% primer yang digunakan menghasilkan produk PCR. Pada tanaman cabai merah sebuah primer tidak menghasilkan produk PCR. Oleh karena itu analisis NT-SYS hanya berdasarkan gabungan dari 19 primer pada 12 varietas cabai merah saja.



varieties generated by combination of 18 primers)

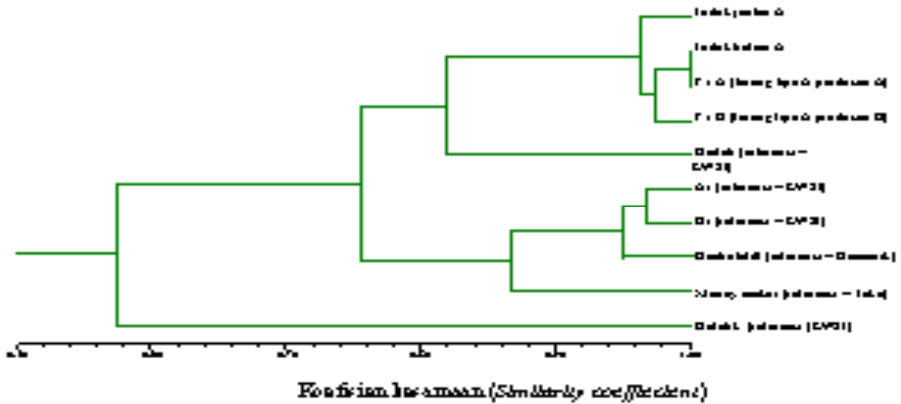


pepper varieties generated by combination of 12 primers)

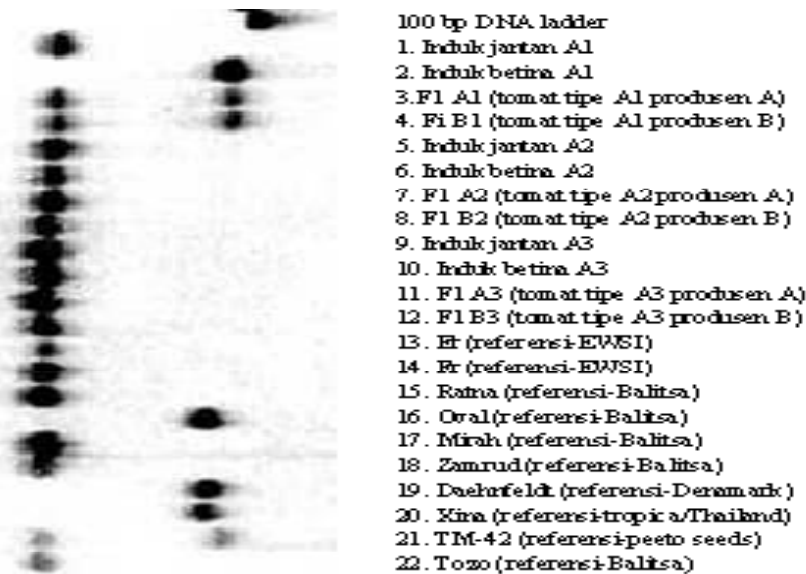
Gambar 2 memperlihatkan dendrogram tanaman cabai merah yang diteliti. Gambar ini menunjukkan bahwa dua set varietas cabai merah yang diverifikasi, yaitu set 1 antara varietas cabai merah F1 A1 (produsen A) dan cabai merah F1 B1 (produsen B) adalah tidak berbeda, demikian juga dengan set 2 antara cabai merah F1 A2 (produsen A) dan cabai merah F1 B2 (produsen B).

Terong

Untuk tanaman terong, semua primer yang digunakan yaitu 18 primer menghasilkan produk PCR, namun hanya 10 varietas dari 14 varietas yang diteliti menghasilkan produk PCR, empat varietas referensi lainnya tidak menghasilkan produk PCR. Keempat varietas tersebut adalah naga ungu, naga hijau, fortuna, dan texas blue. Seperti halnya pada cabai, varietas-varietas yang dipakai untuk analisis NT-SYS adalah varietas-varietas di mana lebih dari 50% primer yang



varietes generated by combination of 18 primers)



Gambar 4. Visualisasi produk PCR tomat dengan primer LEta 020 (*forward: aac ggt gga aac tat tga aag g; reversed: cac cac caa acc cat cgt c*) pada gel poliakrilamida 5% (*Visualization of PCR products using LEta 020 primer (forward: aac ggt gga aac tat tga aag g; reversed: cac cac caa acc cat cgt c) on 5% polyacrylamide*)

digunakan menghasilkan produk PCR. Oleh sebab itu analisis NT-SYS untuk terong ini hanya berdasarkan hasil PCR untuk delapan varietas terong saja dengan menggunakan 18 primer.

Gambar 3 menunjukkan dendrogram tanaman terong yang diteliti. Pada penelitian ini hanya satu set varietas terong yang diverifikasi yaitu varietas terong F1 A (produsen A) dan terong F1 B (produsen B). Pada dendrogram ini terlihat bahwa kedua varietas mempunyai koefisien kesamaan sebesar 0,98 yang berarti mempunyai kesamaan genetik sebesar 98% dan dapat dikatakan sama secara genetik.

Sebagai contoh visualisasi hasil PCR ditampilkan pada Gambar 4. Gambar ini memperlihatkan tetua jantan dan betina tomat A1 yang polimorfis dan tomat F1 A1 (produsen A) dan tomat F1 B 1 (produsen B) monomorfis (heterozigot). Tetua jantan dan betina A2, tomat F1 A2 dan F1 B2 adalah monomorfis (homozigot), dan tetua jantan dan betina A3 serta F1 A3 dan F1 B3 yang monomorfis homozigot.

Dari hasil analisis dengan NT-SYS terlihat bahwa dari enam set varietas yang dievaluasi, empat set varietas memperlihatkan kesamaan genetik sebesar 100%. Dua set varietas, yaitu

varietas tomat F1 A2 (produsen A) dan tomat F1 B2 (produsen B) mempunyai tingkat kesamaan genetik yang tinggi, yaitu sebesar 97%. Demikian halnya dengan tingkat kesamaan genetik dari varietas terong F1 A (produsen A), dan terong F1 B (produsen B) memiliki tingkat kesamaan genetik sebesar 98%. Walaupun belum ada kriteria umum untuk tanaman tomat dan terong, berdasarkan kriteria marka molekuler yang telah disepakati ASSINSEL untuk jagung, disimpulkan bahwa tidak ada perbedaan (*no significant distinctness*), baik antara varietas tomat F1 A2 (produsen A) dan tomat F1 B2 (produsen B) maupun antara varietas terong F1 A (produsen A) dan terong F1 B (produsen B). Dengan kata lain, secara genetik varietas-varietas yang diverifikasi tersebut adalah identik.

KESIMPULAN

Benih tomat, cabai merah, dan terong dari produsen yang diuji dan diverifikasi adalah sama secara genetik dengan tingkat kesamaan genetik >90%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada PT. East West Seed Indonesia yang telah membiayai penelitian ini. Terima kasih juga disampaikan kepada Dr. Ery Sofiari dari Balai Penelitian Tanaman Sayuran (Balitsa) yang telah membantu memberikan beberapa varietas tomat produksi Balitsa yang digunakan sebagai varietas referensi dalam penelitian ini, Dr. Michael Thomson dari Cornell University atas saran-saran yang bermanfaat, dan Ma'sumah, BB-Biogen, yang telah membantu dalam teknis pelaksanaan penelitian ini.

PUSTAKA

1. Bredemeijer, G.M.M., R.J. Cooke, M.W. Ganal, R. Peter, P. Isaac, Y. Noordijk, S. Rendell, J. Jackson, M.S. Roder, K. Wendehake, M. Dijkcs, M. Amelaine, V. Wickart, L. Bertrand and V. Vosman. 2002. Construction and testing of a microsatellite database containing more than 500 tomatoes varieties. *Theor. Appl. Genet.* 105:1019-1026.
2. Edwards, A., H. Civitello, H.A. Hammond, and C.T. Caskey. 1991. DNA typing and genetic mapping with trimeric tetrameric tandem repeat. *Am J Hum Genet.* 49:746-756.
3. He, C., V. Poysa, and K. Yu. 2003. Development and char-

acterization of simple sequence repeat (SSR) markers and their use in determining relationships among *Lycopersicon esculentum* cultivars. *Theor. Appl. Genet.* 106:363-373.

4. Jacob, H.J., K. Lindpaintner, K. Lincodpaintner, S.E. Lincoln, K. Kusumi, R.K. Bunker, Y.P. Mao, D. Ganten, V.J. Dzau, and E.S. Lander. 1991. Genetic mapping of a gene causing hypertension in the strokeprone spontaneously hypertensive rat. *Cell* 67: 213-224.
5. Lee, J.M., S.H. Nahm, Y.M. Kim, and B.D. Kim. 2004. Characterization and molecular genetic mapping of microsatellite in pepper. *Theor. Appl. Genet.* 108:619-627.
6. Nagy I., A. Polley, and M. Ganal. 1998. Development and characterization of microsatellite markers in peper. *Xth Meeting on Genetic and Breeding of Capsicum and Eggplants*, pp. 235-237.
7. Nei, M., and W.H. Li. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proc. Natl. Acad. Sci USA* 76:5269-5273.
8. Nunome, T., K. Suwabe, H. Iketani, and M. Hirai. 2003. Identification and characterization of microsatellites in eggplant. *Plant Breeding* 122:256-262.
9. Rohlf, F.J. 1993. *NTSYS-PC: Manual taxonomy and multivariate analysis system applied biostatistic*. New York.
10. Sanwen, H. Z. Baoxi, D. Milbourne, L. Cardle, Y. Gumei, and G. Jiazhen. 2000. Development of peper SSR markers from sequence databases. *Euphytica* 117: 163-167.
11. Smith, J.S.C, and J.C. Register III. 1998. Genetic purity and testing technologies for seed quality: a company perspective. *Seed Science Research* 8:285-293.
12. Smulder, M.J.M., G. Bredemeijer, W. Rus-Kartekaas, P. Arens, and B. Vosman. 1997. Use of short microsatellites from database sequences to generate polymorphism among *Lycopersicon esculentum* cultivars and accessions among *Lycopersicon* species. *Theor. Appl. Genet.* 97:264-272.
13. Staub, J.E., A. Gaubert, and T.C. Wehner. 1996. Plant variety protection: a consideration of genetic relationships. *Hort. Sci.* 31:1086-1091
14. van Eeuwijk, F.A. and C. P. Baril. 2001. Conceptual and statistical issues related to the use of molecular markers for distinctness and essential derivation. *Acta Hort.* 546:35-53.

A = Benih dari produsen A; B = Benih dari produsen B
Benih dari nomor urut 7 s/d 14 dibeli dari pasar.

Lampiran 1. Varietas tomat yang digunakan pada penelitian (<i>Tomato varieties that were used in this experiment</i>)		Lampiran 2. Varietas cabai merah yang digunakan pada penelitian (<i>Red pepper varieties that were used in this experiment</i>)	
No.	Deskripsi	Deskripsi	
Tipe tomat A1		Tipe cabai merah A1	
1	Induk jantan tomat tomat A1 (produsen A)	1.	Induk jantan cabai merah A1 (produsen A)
2	Induk betina tomat tomat A1 (produsen A)	2.	Induk betina cabai merah A1 (produsen A)
3	Tomat F1 A1 (produsen A)	3.	Cabai merah F1 A1 (produsen A)
4	Tomat F1 B1 (produsen B)	4.	Cabai merah F1 B1 (produsen B)
Tipe tomat A2		Tipe cabai merah A2	
5	Induk jantan tomat tomat A2 (produsen A)	5.	Induk jantan cabai merah A2 (perusahaan)
6	Induk betina tomat tomat A2 (produsen A)	6.	Induk betina cabai merah A2 (perusahaan)
7	Tomat F1 A2 (produsen A)	7.	Cabai merah F1 A2 (produsen A)
8	Tomat F1 B2 (produsen B)	8.	Cabai merah F1 B2 (produsen B)
Tipe tomat A3		Varietas cabai merah referensi	
9	Induk jantan tomat tomat A3 (produsen A)	9.	Cr (produsen A)
10	Induk betina tomat tomat A3 (produsen A)	10.	Dr (produsen A)
11	Tomat F1 A3 (produsen A)	11.	Cemeti (CHLA TAI, Thailand)
12	Tomat F1 B3 (produsen B)	12.	Taro (EWEI)
Varietas tomat referensi		13.	Commando (SANG HYANG SRI)
13	Ei (produsen A)	14.	Wonderhot (HONG NONG)
14	Fi (produsen A)	15.	Arimbi (CHLA TAI, Thailand)
15	Rosa (Salusa)	16.	Nenggala (CHLA TAI, Thailand)
16	Oval (Salusa)	17.	Iiko Hot (KOREA)
17	Mirah (Salusa)	18.	Big Sun (THAILAND)
18	Zona ud (Salusa)	A = Benih dari produsen A; B = Benih dari produsen B	
19	Dendaflek (Dewanti)	Benih nomor urut 11 s/d 18 dibeli dari pasar.	
20	Xiao (Tropica)		
21	TM-42 (Pecan Seeds)		
22	Tom (Tebus)		

Benih nomor urut 15 s/d 18 didapatkan dari Batitsa, sedangkan benih dengan nomor urut 19 s/d 22 dibeli dari pasar.

Lampiran 3. Varietas terong yang digunakan pada penelitian (*Eggplant varieties that were used in this experiment*)

Deskripsi	
Tipe terong A	
1	Induk jantan terong A (produsen A)
2	Induk betina terong A (produsen A)
3	Terong F1 A (produsen A)
4	Terong F1 B (produsen B)
Varietas terong referensi	
5	A1 (produsen A)
6	B1 (produsen A)
7	Dendaflek (Dewanti)
8	Megaungu (CHLA TAI, Thailand)
9	Megaungu (CHLA TAI, Thailand)
10	Deliah (BWS)
11	Percana (BWS)
12	Deliah (BWS)
13	Terong Blue (SANG HYANG SRI)
14	Alency nah cr (T.A.B.I)

benih nomor urut 11 s/d 18 dibeli dari pasar.