

# Keragaman Genetik Plasma Nutfah *Jatropha* spp. Berdasarkan Karakter Morfologi dan Marka Molekuler

## (Genetic Diversity of *Jatropha* spp. Germplasm Based on Morphological and Molecular Markers)

Rerenstradika T. Terryana\*, Kristianto Nugroho, Karden Mulya, I Made Tasma, dan Puji Lestari

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian, Jl. Tentara Pelajar 3A, Bogor 16111 Indonesia  
Telp. (0251) 8337975; Faks. (0251) 8338820; \*E-mail: rerenstradika@pertanian.go.id, re2n\_terryana@gmail.com

Diajukan: 4 Januari 2019; Direvisi: 29 Mei 2019; Diterima: 7 Juni 2019

### ABSTRACT

Germplasm of *Jatropha* spp. with high genetic diversity is needed to develop a new superior variety of *Jatropha* spp. Morphological and molecular characterizations are important to support development of their superior hybrid varieties. The aims of this study were to identify *Jatropha* spp. accession potential for genetic improvement using morphological characters and analyze their genetic diversity using SSR markers. A total of eight genotypes of *Jatropha* spp. originated from several localities in Indonesia and Thailand was observed. Results showed that accessions of *Jatropha* spp. were varied in morphological and molecular characters. Based on principle component analysis, characters of stem color, leaf veins, leaf shapes, flower position, total branch number, productive branch number, petiole color, and petal color contributed most to the total diversity. Based on oil seed content, potential accessions identified for further genetic improvement were *J. podagrica* (34.63%) and *J. curcas* (29.64%). The results of molecular analysis showed that high allele variation (3–7 alleles) was observed among *Jatropha* spp. accessions with an average allele number of 4.12 and the average Polymorphism Information Content (PIC) value was 0.57 (0.46–0.77). Three SSR markers showed PIC value  $>0.5$  indicating that these markers were informative for genetic diversity detection of *Jatropha* spp. The phylogenetic analysis showed that seven accessions of *Jatropha* spp. could be divided in two groups at similarity coefficient of 0.53. Results of genetic diversity analysis in this study should be useful for proper identification and selection for appropriate parents to assist in breeding of *Jatropha* spp. in Indonesia.

**Keywords:** *Jatropha* spp., genetic diversity, morphology, SSR marker.

### ABSTRAK

Plasma nutfah *Jatropha* spp. dengan keragaman genetik yang tinggi sangat diperlukan untuk pengembangan varietas unggul baru. Karakterisasi morfologi dan molekuler sangat penting dalam program pemuliaan tanaman dan pengembangan hibrida unggul *Jatropha* spp. Tujuan penelitian ini ialah mengidentifikasi akses *Jatropha* spp. yang potensial untuk dikembangkan dalam program pemuliaan dan menganalisis keragaman genetik delapan akses *Jatropha* spp. dengan marka SSR. Sebanyak delapan akses *Jatropha* spp. yang berasal dari beberapa daerah di Indonesia dan introduksi dari Thailand diobservasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat keragaman karakter morfologi dan molekuler antaraksesi *Jatropha* spp. Berdasarkan hasil analisis komponen utama, karakter morfologi warna batang, susunan tulang daun, bentuk daun, letak bunga, total jumlah cabang, total jumlah cabang produktif, warna tangkai daun, dan warna petal berkontribusi besar terhadap keragaman total. Akses yang berpotensi untuk dikembangkan lebih lanjut berdasarkan karakter kadar minyak tinggi ialah *J. podagrica* (34,63%) dan *J. curcas* asal Majene (29,64%). Analisis molekuler menggunakan marka SSR menunjukkan bahwa terdapat variasi alel yang cukup tinggi (3–7 alel) di antara akses *Jatropha* spp. dengan rerata 4,12 alel, sedangkan nilai *Polymorphism Information Content* (PIC) rerata sebesar 0,57 (0,46–0,77). Tiga marka SSR memiliki nilai PIC  $>0,5$  yang menunjukkan bahwa marka SSR tersebut cukup informatif dalam mendeteksi keragaman genetik akses *Jatropha* spp. Hasil analisis filogenetik menunjukkan bahwa tujuh akses *Jatropha* spp. mengelompok menjadi dua kelompok utama pada koefisien kemiripan 0,53. Analisis keragaman genetik ini bermanfaat sebagai langkah awal identifikasi dan seleksi tetua persilangan dalam membantu program pemuliaan *Jatropha* spp. di Indonesia.

**Kata kunci:** *Jatropha* spp., keragaman genetik, morfologi, marka SSR.

## PENDAHULUAN

*Jatropha curcas* L. atau jarak pagar merupakan salah satu spesies *Jatropha* spp. yang berpotensi sebagai sumber bahan bakar nabati pengganti minyak bumi terutama untuk produksi biodiesel (King et al. 2009; Harimurti dan Sumangat 2011; Tasma 2017). Biji jarak pagar memiliki kandungan minyak hingga 35% dengan asam oleat dan asam linoleat tinggi (Forson et al. 2004; Mohibbe et al. 2005; King et al. 2009). Adanya bahan bakar dari minyak biji jarak pagar diharapkan mampu mengurangi ketergantungan terhadap bahan bakar berbasis minyak bumi yang sifatnya tidak dapat diperbarui. Namun, pengembangan jarak pagar sebagai bahan bakar nabati masih terkendala oleh permasalahan belum tersedianya akses jarak pagar dengan hasil biji dan kadar minyak tinggi yang menyebabkan petani kurang tertarik untuk mengembangkannya (Hartati et al. 2009; Shuit et al. 2010; Ghosh dan Singh, 2011).

Perakitan varietas unggul baru jarak pagar merupakan salah satu upaya dalam program pengembangan jarak di Indonesia. Dalam perakitan varietas unggul dibutuhkan tanaman induk dengan potensi hasil tinggi, berumur genjah, panen buah serentak, dan tahan terhadap cekaman biotik dan abiotik (Hartati et al. 2009; Tasma 2017). Salah satu upaya yang dapat dilakukan yaitu eksplorasi plasma nutfah jarak pagar, baik lokal maupun introduksi dari luar negeri (Surahman et al. 2009), untuk selanjutnya digunakan sebagai materi genetik dalam program pemuliaan terutama dalam proses seleksi. Proses ini diawali dengan karakterisasi tanaman calon tetua persilangan untuk mendapatkan aksesi yang potensial dengan sifat yang benar-benar diinginkan untuk dikembangkan lebih lanjut (Nugroho et al. 2015; Tasma 2017).

Selain jarak pagar, terdapat anggota genus *Jatropha* yang memiliki kadar minyak tinggi, tetapi pada umumnya dibudidayakan sebagai tanaman hias, di antaranya jarak bali atau *bottleshrub plant* (*J. podagrica* Hook.), jarak cina atau *coral plant* (*J. multifida*), jarak ulung atau *bellyache bush* (*J. gossypifolia* L.), *spicy jatropha* (*J. integerrima* Jacq.), dan *red physic nut* (*J. montana* Willd.). Jarak bali memiliki kadar minyak dalam biji lebih dari 50% sehingga cocok untuk dijadikan sebagai tanaman donor sifat minyak tinggi, jarak cina memiliki ukuran buah besar, sedangkan *bellyache bush* memiliki sifat toleran terhadap cekaman salinitas dan kekeringan (Ratha dan Paramathma 2009). Anggota genus *Jatropha* tersebut sangat potensial sebagai sumber gen tertentu yang jika dikombinasikan dengan jarak

pagar dapat menghasilkan varietas unggul baru jarak berkadar minyak tinggi (Nugroho et al. 2017).

Selama ini, karakterisasi materi genetik umumnya dilakukan berdasarkan karakter morfologi. Karakter morfologi merupakan wujud nyata keragaman fenotipik, akan tetapi karakter ini merupakan hasil interaksi antara genotipe dan lingkungannya sehingga seringkali sulit untuk membedakan apakah karakter tersebut bersifat genetis atau lebih banyak dipengaruhi oleh lingkungan tumbuh (Hartati et al. 2009; Surahman et al. 2009). Sementara itu, karakterisasi berdasarkan marka molekuler memberikan hasil yang lebih presisi karena tidak dipengaruhi oleh lingkungan (Risliawati et al. 2015). Karakterisasi berdasarkan marka molekuler menjadi informasi pelengkap dalam karakterisasi materi genetik secara morfologi. Analisis keragaman genetik *Jatropha* spp. selama ini umumnya dilakukan berdasarkan marka molekuler seperti yang telah dilaporkan oleh Satyawan dan Tasma (2011), Mastan et al. (2012), dan Nugroho et al. (2017). Pada penelitian ini dilakukan analisis keragaman berdasarkan karakter morfologi dan marka molekuler.

Informasi keragaman genetik berdasarkan gabungan karakterisasi secara morfologi dan molekuler di antara aksesi *Jatropha* spp. dalam penelitian ini diharapkan dapat membantu identifikasi aksesi dengan potensi produksi biji dan kadar minyak tinggi seperti yang telah dilakukan sebelumnya oleh Surahman et al. (2009), Shabanimofrad et al. (2013), dan Dyah et al. (2018). Surahman et al. (2009) dalam penelitiannya telah merekomendasikan aksesi-aksesi *Jatropha* yang berpotensi untuk dikembangkan lebih lanjut berdasarkan karakter produktivitas dan kadar minyak melalui analisis karakterisasi secara morfologi dan molekuler menggunakan marka RAPD.

Marka *Simple Sequence Repeat* (SSR) atau mikrosatelit merupakan salah satu marka molekuler yang banyak digunakan dalam kegiatan analisis keragaman genetik. SSR merupakan sekuen pendek berulang yang keberadaannya melimpah pada genom organisme eukariotik, bersifat kodominan, dan mudah dalam aplikasinya (Wang et al. 2014). Marka SSR telah banyak digunakan sebelumnya untuk identifikasi keragaman genetik plasma nutfah *Jatropha* spp. (Basha dan Sujatha 2007; Caia et al. 2010; Mastan et al. 2012; Maurya et al. 2013; Montes et al. 2014; Sanou et al. 2015). Saptadi et al. (2011) telah melakukan penelitian pengembangan marka SSR untuk evaluasi keragaman genetik *Jatropha* spp. di Indonesia, namun baru sebatas pada *J. curcas* dan *J. multifida*. Selain itu, Nugroho et al. (2017) juga telah menganalisis keragaman genetik plasma nutfah

*J. curcas*, *J. podagrifica*, *J. gossypifolia*, dan *J. multifida* dengan marka SSR. Tujuan penelitian ini ialah mengidentifikasi aksesi *Jatropha* spp. yang potensial untuk dikembangkan dalam program pemuliaan dan menganalisis keragaman genetik delapan aksesi *Jatropha* spp. dengan marka SSR.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biologi Molekuler dan KP Cikemeuh, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian, Bogor. Bahan penelitian yang digunakan ialah delapan aksesi *Jatropha* spp. (Tabel 1). Seluruh aksesi yang digunakan kecuali *J. montana* sama dengan aksesi yang digunakan oleh Nugroho et al. (2017). Dari 4 aksesi *J. curcas*, 1 aksesi merupakan introduksi dari Thailand (Kasetsart University) dan 3 aksesi lainnya merupakan aksesi lokal Indonesia. Seluruh aksesi ditanam dalam pot dengan jarak antarpot  $2\text{ m} \times 3\text{ m}$  dan setiap aksesi berjumlah dua tanaman.

Seluruh aksesi diamati untuk analisis keragaman genetik berdasarkan karakter morfologinya, sedangkan untuk analisis berdasarkan marka molekuler dipilih satu tanaman untuk diambil sampel daunnya. Analisis molekuler dilakukan dengan delapan marka SSR.

### Karakterisasi Morfologi

Sebanyak dua puluh karakter morfologi baik secara kualitatif maupun kuantitatif diamati, meliputi karakter daun (bentuk daun, tekstur daun, urat tulang daun, warna daun muda dan tua, susunan tulang daun, dan warna tangkai daun), batang (diameter batang, jumlah cabang total, jumlah cabang produktif, dan warna batang), bunga (letak bunga, tipe bunga, warna petal, jumlah bunga [jantan, betina, dan hermafrodit] per malai, serta persentase viabilitas serbuk sari), dan biji (bentuk biji). Pengamatan dilakukan terhadap setiap individu tanaman mengacu pada pedoman Deskriptor Tanaman Perkebunan untuk tanaman jarak kepyar yang dimodifikasi untuk

jarak pagar (Puslitbangbun 2005) dan kadar lemak kasar delapan aksesi tersebut dianalisis dengan metode ekstraksi Soxhlet (SNI 01-2891-1992).

Pengamatan dilakukan terhadap data kualitatif dan kuantitatif (Tabel 2) untuk mengetahui perbedaan karakter morfologi antara aksesi. Data kualitatif dan kuantitatif juga dianalisis korelasi dan komponen utamanya dengan perangkat lunak XLSTAT (Addinsoft 2011). Analisis komponen utama (*Principal Component Analysis*, PCA) dilakukan untuk mengetahui seberapa besar suatu karakter berkontribusi terhadap keragaman sehingga hasilnya dapat digunakan untuk mengidentifikasi karakter penciri aksesi yang diuji (Afuape et al. 2015).

### Karakterisasi Molekuler Berdasarkan Marka SSR

DNA genomik diekstraksi dari daun muda yang diambil dari satu tanaman per aksesi dari total delapan aksesi *Jatropha* spp. yang diuji. DNA genomik diisolasi dengan bufer setrimonium bromida (*cetyltrimethylammonium bromide*, CTAB) mengacu pada metode CTAB (Doyle 1991) yang dimodifikasi. Uji kuantitatif larutan stok DNA dilakukan dengan *NanoDrop™ 2000 Spectrophotometer V1.0* (Thermo Fisher Scientific, AS), sedangkan uji kualitatif dilakukan dengan teknik elektroforesis pada gel agarosa dengan konsentrasi 1%. Hasil elektroforesis kemudian divisualisasi di bawah sinar UV dalam *UV Transilluminator* (Bio-Rad, AS).

Analisis PCR dilakukan dengan delapan marka SSR yang didisain berdasarkan data sekuen genom jarak pagar, yaitu JcSTS-SSR1, JcSTS-SSR2, JcSTS-SSR3, JcSTS-SSR4, JcSTS-SSR5, JcSTS-SSR6, JcSTS-SSR7, dan JcSTS-SSR8 yang informasinya dapat diakses pada situs Pusat Genom Pertanian Indonesia (Balitbangtan 2018). Setiap sampel DNA aksesi diamplifikasi dalam  $10\text{ }\mu\text{l}$  reaksi total yang mengandung  $2\text{ }\mu\text{l}$  DNA cetakan (*template*)  $20\text{ ng}/\mu\text{l}$ ;  $5\text{ }\mu\text{l}$  *Kapa2G Fast ReadyMix PCR Kit* (Kapa Biosystems, AS);  $0,5\text{ }\mu\text{l}$  primer *forward* dan *reverse* masing-masing dengan konsentrasi  $10\text{ }\mu\text{M}$ ;  $2\text{ }\mu\text{l}$  ddH<sub>2</sub>O.

Tabel 1. Aksesi *Jatropha* spp. yang digunakan pada penelitian ini.

Kode aksesi	Aksesi	Asal daerah/Negara
JCT	<i>Jatropha curcas</i>	Thailand
JCB	<i>J. curcas</i>	Pulau Bacan, Maluku
JCM	<i>J. curcas</i>	Majene, Sulawesi Selatan
JCP	<i>J. curcas</i>	Pakuwon, Jawa Barat
JPT	<i>J. podagrifica</i>	Thailand
JMT	<i>J. multifida</i>	Thailand
JGT	<i>J. gossypifolia</i>	Thailand
JMW	<i>J. montana</i>	Thailand

**Tabel 2.** Karakter morfologi yang diamati pada delapan aksesi *Jatropha* spp.

Kode variabel pengamatan	Variabel pengamatan	Kode skor
TD	Tekstur daun	3 = kasar; 5 = halus
STD	Susunan tulang daun	3 = menjari; 5 = menyirip
WDM	Warna daun muda	1 = merah; 2 = hijau kemerahan; 3 = merah kehijauan; 4 = hijau; 5 = hijau kecokelatan; 7 = cokelat kehijauan; 8 = hijau tua
WDT	Warna daun tua	1 = merah; 2 = hijau kemerahan; 3 = merah kehijauan; 4 = hijau; 5 = hijau kecokelatan; 7 = cokelat kehijauan; 8 = hijau tua
BD	Bentuk daun	3 = bulat; 5 = jorong
WTD	Warna tangkai daun	1 = merah; 2 = hijau kemerahan; 3 = merah kehijauan; 4 = hijau; 5 = hijau kecokelatan; 7 = cokelat kehijauan; 8 = ungu
WB	Warna batang	1 = abu-abu; 2 = hijau
LB	Letak bunga	3 = <i>flos terminalis</i> ; 5 = <i>flos lateralis</i>
TB	Tipe bunga	3 = <i>monoecious</i> ; 5 = hermafrodit
WP	Warna petal	1 = hijau muda; 2 = merah; 3 = merah keunguan
WBM	Warna buah muda	1 = hijau muda; 2 = hijau tua; 3 = kuning; 4 = cokelat
WBF	Warna buah saat masak fisiologis	1 = hijau muda; 2 = hijau tua; 3 = kuning; 4 = cokelat
BB	Bentuk biji	1 = lonjong; 2 = bulat; 3 = oval
DB	Diameter batang	Diukur pada ketinggian 10 cm dari permukaan tanah
TCB	Total jumlah cabang	Jumlah seluruh cabang tanaman
JCP	Jumlah cabang produktif	Jumlah cabang tanaman yang terdapat bunga (produktif)
JBJ	Jumlah bunga jantan per malai	Jumlah bunga jantan yang terdapat dalam satu malai
JBB	Jumlah bunga betina atau hermafrodit per malai	Jumlah bunga betina atau hermafrodit yang terdapat dalam satu malai
VP	Viabilitas serbuk sari (%)	Persentase viabilitas serbuk sari
KLK	Kadar lemak kasar (%)	Persentase kadar lemak kasar hasil analisis dengan metode ekstraksi Soxhlet (SNI 01-2891-1992).

Reaksi PCR dilakukan pada mesin PCR *T1 Thermocycler* (Biometra, Jerman) dengan profil PCR sebagai berikut: denaturasi awal pada 95°C selama 3 menit, dilanjutkan dengan 35 siklus denaturasi pada 95°C selama 15 detik, penempelan primer (*annealing*) pada 55°C selama 15 detik, dan perpanjangan basa (*elongation*) pada 72°C selama 30 detik. Reaksi PCR diakhiri dengan tahap akhir perpanjangan basa (*final extension*) pada 72°C selama 1 menit. Hasil PCR dielektroforesis pada gel poliakrilamida 8% di dalam tangki berisi bufer TBE 1×, dengan tegangan 90 volt selama 110 menit. Hasil elektroforesis kemudian diwarnai dengan etidium bromida dan divisualisasi dengan *UV Transilluminator* (Bio-Rad, AS).

Analisis data hasil karakterisasi molekuler dengan marka SSR dilakukan berdasarkan metode skoring terhadap pita DNA yang muncul. Untuk mempermudah penentuan posisi pita, skoring dilakukan dengan bantuan perangkat lunak *GelAnalyzer*. Setiap pita DNA yang terlihat dianggap sebagai satu alel dan pita DNA dengan laju pergerakan yang sama diasumsikan berasal dari lokus yang sama. Pada laju yang sama, setiap pita yang terlihat diberi skor 1, sedangkan pita yang tidak terlihat diberi skor 0 sehingga hasil skoring berupa data biner. Data hasil skoring selanjutnya dianalisis dengan program *Sequential Agglomerative Hierarchical and Nested-Unweighted Pair-Group Method with Arithmetic* (SAHN-UPGMA)

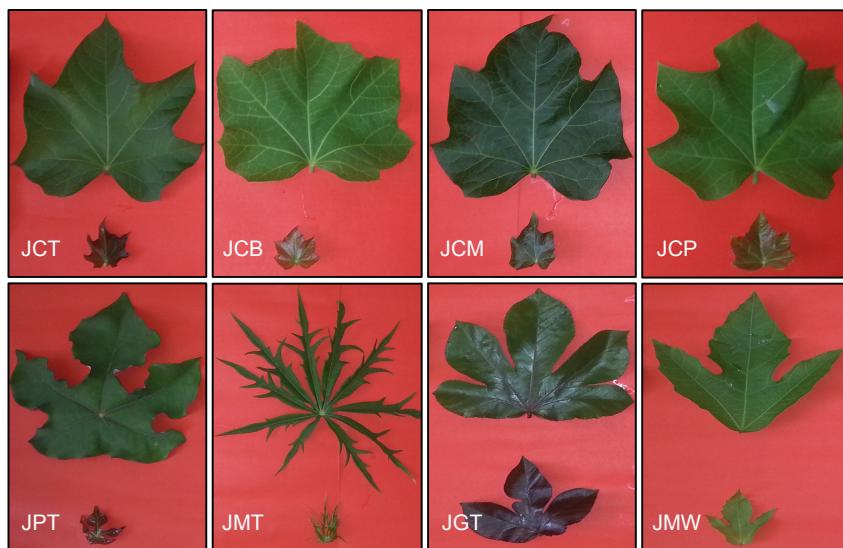
pada perangkat lunak *Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System* (NTSYS) versi 2.02 (Jamshidi dan Jamshidi 2011) untuk menganalisis tingkat kekerabatan antara aksesi *Jatropha* spp. Hasil analisis disajikan dalam bentuk dendrogram, selanjutnya data hasil skoring juga dianalisis dengan menggunakan perangkat lunak *PowerMarker 3.45* (Liu dan Muse 2005) untuk statistik nilai frekuensi alel utama, diversitas genetik, heterozigositas, dan nilai PIC yang dihasilkan oleh marka SSR.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Karakterisasi Morfologi

#### Karakter morfologi delapan aksesi *Jatropha* spp.

Hasil pengamatan terhadap karakter morfologi delapan aksesi *Jatropha* spp. menunjukkan adanya keragaman morfologi pada seluruh karakter yang diamati, baik pada batang, daun, bunga, buah, maupun biji, hingga serbuk sari dan kadar lemak kasar. Karakter batang dan daun delapan aksesi *Jatropha* spp. bervariasi mulai warna batang hijau hingga merah dan daun berbentuk bulat hingga jorong (Gambar 1). Selain karakter batang dan daun, keragaman juga tampak pada karakter morfologi lainnya seperti bunga, buah, biji, hingga serbuk sari. Tabel 3 menyajikan hasil analisis statistik deskriptif karakter morfologi kualitatif dan kuantitatif delapan aksesi *Jatropha* spp.



**Gambar 1.** Keragaman morfologi daun muda dan daun tua delapan aksesi *Jatropha* spp. Penjelasan kode aksesi yang dianalisis mengacu pada Tabel 1.

**Tabel 3.** Statistik deskriptif karakter morfologi delapan aksesi *Jatropha* spp.

Kode variabel pengamatan*	Rerata	Simpangan baku	Nilai minimum	Nilai maksimum	Koefisien keragaman (%)
TD	5,00	0,00	5,00	5,00	0,00
WB	1,13	0,35	1,00	2,00	31,40
STD	3,25	0,71	3,00	5,00	21,80
BD	3,25	0,71	3,00	5,00	21,80
WDM	4,25	1,91	1,00	7,00	44,90
WDT	5,25	2,38	2,00	8,00	45,20
WTD	3,90	1,90	2,00	8,00	49,00
LB	3,00	1,00	3,00	5,00	22,00
TB	3,30	0,70	3,00	5,00	22,00
WP	1,50	0,76	1,00	3,00	50,40
WBM	1,00	0,00	1,00	1,00	0,00
WBF	2,90	0,60	2,00	4,00	22,00
BB	1,00	1,00	1,00	3,00	54,00
DB	3,37	1,17	2,15	5,72	34,90
TCB	5,79	5,96	1,00	19,70	93,00
JCP	4,79	5,24	1,00	17,00	95,00
JB	62,91	31,25	14,67	87,33	49,67
JBB	4,74	2,53	2,33	9,00	53,26
VP	76,04	3,79	69,33	80,00	49,96
KLK	26,68	5,33	15,82	34,63	19,97

\*Kode variabel pengamatan mengacu pada Tabel 2.

Hasil analisis menunjukkan bahwa seluruh karakter morfologi memiliki nilai koefisien keragaman yang cukup besar, yaitu berkisar antara 19,97% (KLK) dan 95,00% (JCP). Seluruh aksesi *Jatropha* spp. pada penelitian ini memiliki kesamaan karakter TD dan WBM sehingga koefisien keragamannya bernilai nol (tidak ada keragaman karakter antaraksesi). *J. montana* memiliki karakter STD, BD, TB, dan LB yang berbeda dengan ketujuh aksesi lainnya.

Hasil pengamatan berdasarkan karakter morfologi kuantitatif (Tabel 4) menunjukkan bahwa aksesi *J. curcas* asal Thailand memiliki batang dengan DB terbesar dan berbeda nyata dibanding dengan aksesi

lainnya yaitu sebesar 5,72 cm, sedangkan *J. montana* memiliki TCB yang tertinggi dan berbeda nyata dibanding dengan aksesi lainnya yaitu sebanyak 19,67 cabang, dengan 17 cabang di antaranya produktif (JCP).

Pada fase generatif, salah satu karakter agronomi yang diamati adalah karakter jumlah bunga jantan dan betina per malai bunga serta persentase viabilitas serbuk sari. Ketiga karakter tersebut dapat menjadi tolok ukur produksi buah *Jatropha* spp. (Abdelgadir et al. 2012; Ahkamulloh et al. 2013; Amkul et al. 2016). Wijaya et al. (2009) melaporkan bahwa terdapat korelasi positif antara jumlah bunga betina

**Tabel 4.** Karakter morfologi kuantitatif delapan aksesi *Jatropha* spp. yang diamati pada penelitian ini.

Aksesi	Diameter batang (cm)	Jumlah cabang per tanaman	Jumlah cabang produktif per tanaman	Jumlah bunga jantan per malai	Jumlah bunga betina per malai	Viabilitas serbuk sari (%)	Kadar lemak kasar (%)
JCM	2,50 b	02,00 b	02,00 b	87,33 d	4,67 c	80,00 d	29,64 g
JCP	4,27 e	05,00 e	03,67 c	93,67 d	8,33 d	79,67 d	28,15 f
JCB	3,28 c	04,00 d	02,67 bc	85,67 d	4,00 bc	79,00 cd	27,45 e
JCT	5,72 f	04,00 d	02,33 b	76,00 c	3,33 abc	75,00 b	27,33 d
JPT	2,38 b	01,00 a	01,00 a	66,33 b	9,00 d	69,33 a	34,63 h
JGT	3,10 c	07,67 f	07,00 d	15,33 a	2,33 a	77,00 bcd	15,82 a
JMT	3,52 d	03,00 c	02,67 bc	64,33 b	2,67 ab	76,33 bc	26,13 c
JMW	2,15 a	19,67 g	17,00 e	14,67 a	3,67 abc	72,00 a	24,33 b

Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada taraf uji 5%.

per malai dan produksi buah *Jatropha* spp., sedangkan viabilitas serbuk sari berkorelasi positif dengan persentase terbentuknya buah (Amkul et al. 2016).

Berdasarkan hasil pengamatan, tiga aksesi *J. curcas* yang berasal dari Majene, Pakuwon, dan Pulau Bacan memiliki jumlah bunga jantan per malai tinggi dengan persentase viabilitas serbuk sari yang tinggi pula (79–80%), sedangkan jumlah bunga betina per malai tertinggi dimiliki oleh *J. podagrifica*.

Persentase KLK yang mencerminkan kadar produksi minyak tertinggi di antara delapan aksesi *Jatropha* spp. ialah *J. podagrifica* sebesar 34,63%, sedangkan yang terendah dimiliki oleh *J. gossypifolia* sebesar 15,82%. Oleh karena itu, aksesi *J. podagrifica* memiliki potensi yang baik untuk dikembangkan selanjutnya. Aksesi ini memiliki jumlah bunga betina per malai yang cukup banyak sehingga diharapkan produksi buah yang tinggi dengan kadar minyak yang tinggi pula. Karakter kadar minyak tinggi dapat dijadikan sebagai acuan dalam pemilihan tetua persilangan untuk memperoleh varietas unggul jarak pagar dengan potensi hasil minyak tinggi. Ratha dan Paramathma (2009) dan Nugroho et al. (2017) merekomendasikan *J. podagrifica* sebagai tetua persilangan dengan potensi kadar minyak tinggi lebih dari 30%. Potensi tersebut memungkinkan terjadinya perbaikan pada karakter kadar minyak pada spesies *Jatropha* spp. lain yang memiliki kadar lemak kasar rerata di bawah 30%.

Berdasarkan hasil karakterisasi morfologi delapan aksesi *Jatropha* spp., setiap aksesi memiliki karakter tersendiri yang membedakan antaraksesi. Karakter tersebut diharapkan dapat saling melengkapi untuk memperbaiki sifat *Jatropha* spp. Salah satu cara untuk memperoleh sifat unggul tanaman ialah melalui kegiatan persilangan antaraksesi, baik dengan spesies yang sama maupun dengan spesies yang berbeda. Beberapa penelitian sebelumnya telah melaporkan bahwa persilangan interspesifik pada *Jatropha* spp. dapat dilakukan dan menghasilkan biji fertil (Kumar et al. 2009; Laosatit et al. 2014; Muakrong et al. 2014).

### Analisis komponen utama

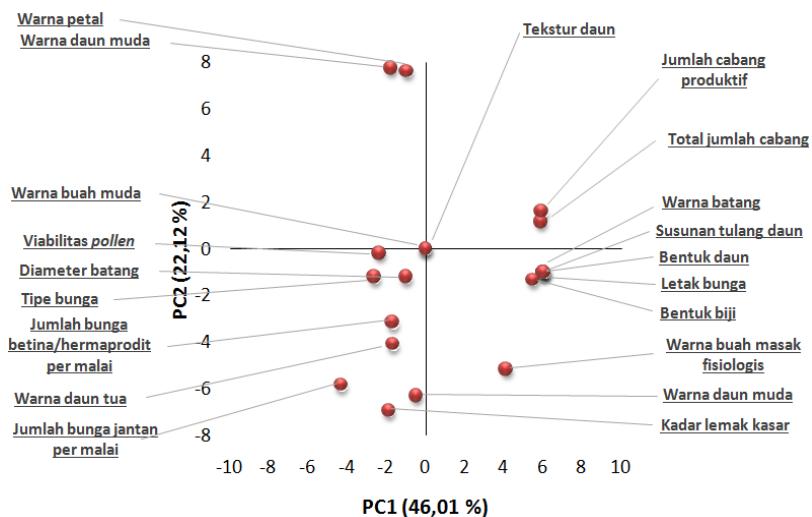
Analisis komponen utama dilakukan untuk mengetahui karakter yang berkontribusi terhadap keragaman genetik pada suatu populasi. Penggunaan analisis komponen utama untuk mengetahui keragaman berbagai karakter morfologi *Jatropha* spp. telah dilakukan sebelumnya oleh Zapico et al. (2011) yang memperoleh lima komponen utama dengan keragaman sebesar 88,81% dari keragaman total dan Nietsche et al. (2015) yang memperoleh tiga komponen utama dengan keragaman sebesar 73,5% dari keragaman total di antara aksesi yang diuji.

Hasil analisis komponen utama pada penelitian ini telah mereduksi karakter morfologi yang diamati menjadi dua komponen utama (PCA) yang memiliki *eigenvalue* >1 dan mampu menjelaskan keragaman materi genetik *Jatropha* spp. sebesar 78,13% (Gambar 2, Tabel 4). PC1 dengan *eigenvalue* 8,28 berkontribusi terhadap 46,01% keragaman total, sedangkan PC2 dengan *eigenvalue* 3,98 berkontribusi terhadap 22,12% keragaman total di antara 8 aksesi *Jatropha* spp. yang diuji. Haydar et al. (2007) melaporkan bahwa karakter yang berkontribusi maksimum terhadap keragaman materi genetik adalah karakter yang memiliki nilai vektor ciri terbesar dan positif. Pada PC1, karakter yang berkontribusi besar terhadap keragaman ialah WB, STD, BD, LB, TCB, dan JCP, sedangkan karakter WTD dan WP berkontribusi besar terhadap keragaman pada PC2 (Tabel 5).

### Karakterisasi Molekuler Berdasarkan Marka SSR

#### Profil marka SSR

Berdasarkan hasil analisis, seluruh marka SSR yang digunakan pada penelitian ini mampu memperlihatkan polimorfisme pada aksesi-aksesi *Jatropha* spp. yang diuji kecuali pada *J. montana*. Hal ini dikarenakan pita DNA *J. montana* tidak teramplifikasi pada seluruh marka SSR yang digunakan. Hal tersebut dimungkinkan karena *J. montana* memiliki ka-



**Gambar 2.** Pola distribusi keragaman karakter morfologi hasil analisis komponen utama delapan aksesi *Jatropha* spp.

**Tabel 5.** Analisis komponen utama delapan aksesi *Jatropha* spp.

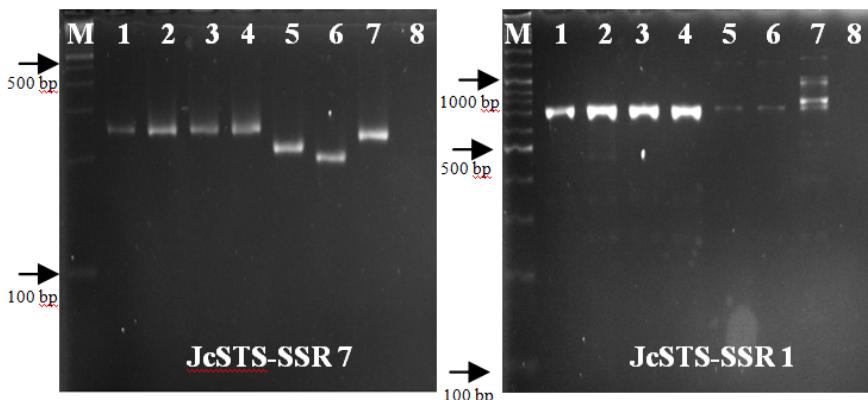
Kode variabel pengamatan*	PC1	PC2
TD	00,00	00,00
WB	00,34	-0,06
STD	00,34	-0,06
BD	00,34	-0,06
WDM	-0,03	-0,36
WDT	-0,10	-0,23
WTD	-0,10	00,44
LB	00,34	-0,06
TB	-0,06	-0,07
WP	-0,06	00,44
WBM	00,00	00,00
WBF	00,23	-0,30
BB	00,31	-0,08
DB	-0,15	-0,07
TCB	00,34	00,07
JCP	00,34	00,09
JBJ	-0,25	-0,33
JB <sub>B</sub>	-0,10	-0,18
VP	-0,13	-0,01
KLK	-0,11	-0,40
Eigenvalue	08,28	03,98
Proporsi	46,01	22,12
Kumulatif	46,01	68,13

\*Penjelasan kode variabel pengamatan yang dianalisis mengacu pada Tabel 2.

rakter morfologi dan secara genetik sangat berbeda (Gambar 3). Sebanyak 33 alel terdeteksi berdasarkan 8 marka SSR yang digunakan. Jumlah alel (Na) rerata marka SSR hasil amplifikasi sebanyak 4,12 alel per marka dengan kisaran 3–7 alel per lokus (Tabel 6). Jumlah alel rerata yang terdeteksi pada penelitian ini masih lebih tinggi dibanding dengan hasil penelitian Maurya dan Yadav (2016) yang mendeteksi 3,56 alel dan hasil penelitian Sinha et al. (2015) yang mendeteksi 3,08 alel, tetapi lebih rendah dibanding dengan hasil penelitian Raposo et al. (2015) yang ber-

hasil mendeteksi 5,50 alel dan Nugroho et al. (2017) yang berhasil mendeteksi 6,45 alel.

Kisaran jumlah alel yang diperoleh pada penelitian ini juga lebih tinggi dibanding dengan hasil penelitian Tanya et al. (2011) dan Vischi et al. (2013) yang memperoleh kisaran 2–3 alel per lokus, namun lebih rendah dibanding dengan hasil penelitian Ouattara et al. (2014) dengan kisaran 3–11 alel per lokus, Zubieta et al. (2009) dengan kisaran 4–6 alel per lokus, dan Nugroho et al. (2017) dengan kisaran 4–9 alel per lokus. Hal ini dikarenakan jumlah aksesi



**Gambar 3.** Contoh pola pita yang divisualisasikan dari hasil elektroforesis pada gel poliakrilamida 8% dengan marka JcSTS-SSR7 dan JcSTS-SSR. M = 100 bp *ladder*; 1 = JCT, 2 = JCB, 3 = JCM, 4 = JCP, 5 = JPT, 6 = JMT, 7 = JGT, 8 = JMW.

**Tabel 6.** Jumlah alel, frekuensi alel utama, diversitas gen, heterozigositas, dan tingkat polimorfisme yang dihasilkan delapan marka SSR hasil analisis pada delapan aksesi *Jatropha* spp.

Lokus	Na	Af	Gd	He	PIC
JcSTS-SSR1	4	0,42	0,69	0,24	0,64
JcSTS-SSR2	7	0,35	0,79	0,28	0,77
JcSTS-SSR3	3	0,57	0,57	0,47	0,50
JcSTS-SSR4	3	0,42	0,61	0,62	0,52
JcSTS-SSR5	3	0,57	0,57	0,39	0,50
JcSTS-SSR6	5	0,42	0,70	0,28	0,65
JcSTS-SSR7	4	0,57	0,61	0,72	0,56
JcSTS-SSR8	4	0,50	0,56	0,08	0,46
Jumlah	33				
Rerata	4,12	0,48	0,64	0,38	0,57

Na = jumlah alel, Af = frekuensi alel utama, Gd = diversitas gen, He = heterozigositas, PIC = tingkat polimorfisme.

dan marka yang digunakan pada penelitian ini lebih sedikit dibanding dengan penelitian-penelitian tersebut.

Frekuensi alel utama (Af) rerata yang diperoleh pada penelitian ini sebesar 48% dengan nilai terendah 35% pada marka JcSTS-SSR2 dan nilai tertinggi 57% pada marka JcSTS-SSR3, JcSTS-SSR5, dan JcSTS-SSR7. Sementara, Ambrosi et al. (2010) memperoleh kisaran frekuensi alel utama yang lebih besar, antara 39–94%. Seluruh marka SSR yang digunakan pada penelitian ini mampu mendiskriminasikan alel heterozigot dengan nilai heterozigositas berkisar antara 0,08 (JcSTS-SSR8) dan 0,72 (JcSTS-SSR7).

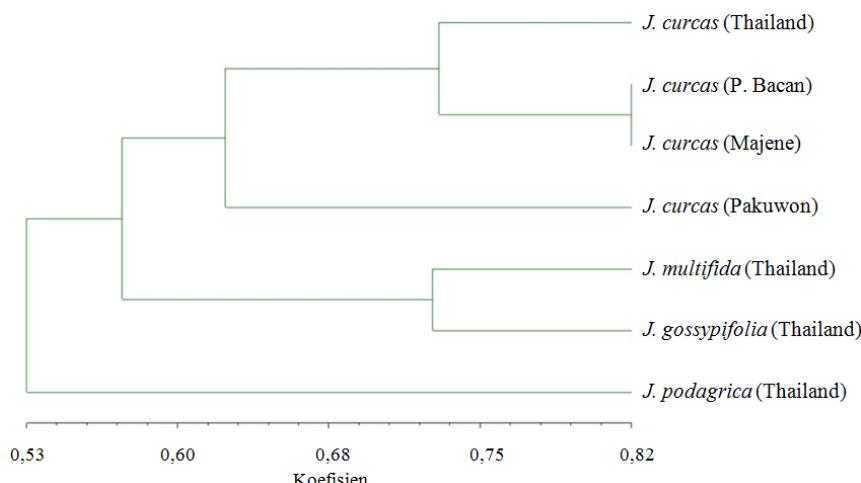
Nilai diversitas gen (Gd) yang menunjukkan tingkat keragaman genetik dalam suatu populasi (Somantri et al. 2002) berkisar antara 0,56 (JcSTS-SSR8) dan 0,79 (JcSTS-SSR2) dengan rerata 0,64. Nilai rerata ini lebih tinggi jika dibandingkan dengan hasil penelitian Yaowalak et al. (2011) sebesar 0,16.

Nilai PIC berkisar antara 0,46 (JcSTS-SSR8) dan 0,77 (JcSTS-SSR2) dengan rerata sebesar 0,57. Kisaran

nilai PIC pada penelitian ini lebih tinggi dibanding dengan hasil penelitian Santos et al. (2016) yang berkisar antara 0,04 dan 0,53 dan Tanya et al. (2011) yang berkisar antara 0,02 dan 0,39. Menurut pengklasifikasi nilai PIC yang telah dilakukan oleh Botstein et al. (1980) dan Hildebrand et al. (1994), ketiga marka SSR yang digunakan pada penelitian ini (JcSTS-SSR1, JcSTS-SSR2, dan JcSTS-SSR6) termasuk ke dalam kategori sangat informatif ( $\text{PIC} > 0,5$ ) dalam membedakan antar aksesi *Jatropha* spp. yang diuji.

#### Analisis filogenetik

Analisis filogenetik menunjukkan bahwa tujuh aksesi *Jatropha* spp. memisah menjadi dua kelompok utama pada koefisien 0,53 (Gambar 4). Kelompok pertama terbagi lagi menjadi dua subkelompok pada koefisien 0,56, dengan subkelompok pertama terdiri atas empat aksesi yang seluruhnya merupakan spesies *J. curcas*, sedangkan subkelompok kedua terdiri atas *J. multifida* dan *J. gossypifolia*. Menurut Satyawan dan Tasma (2011), *J. gossypifolia* dan *J. multifida* memiliki kemiripan dengan *J. curcas* pada



**Gambar 4.** Dendrogram delapan aksesi *Jatropha* spp. Berdasarkan hasil analisis menggunakan delapan marka SSR yang dianalisis dengan perangkat lunak NTSYS.

**Tabel 7.** Matriks kesamaan genetik delapan aksesi *Jatropha* spp. hasil analisis menggunakan delapan marka SSR.

Kode aksesi	JCT	JCB	JCM	JCP	JMT	JGT	JPT
JCT	1,00						
JCB	0,75	1,00					
JCM	0,69	0,81	1,00				
JCP	0,72	0,54	0,60	1,00			
JMT	0,54	0,48	0,54	0,51	1,00		
JGT	0,62	0,55	0,55	0,58	0,58	1,00	
JPT	0,62	0,55	0,55	0,58	0,51	0,72	1,00

Penjelasan kode aksesi yang dianalisis mengacu pada Tabel 1.

konfigurasi kromosom selama pembelahan meiosis sehingga diduga menyebabkan kekerabatan di antara *J. gossypifolia*, *J. multifida*, dan *J. curcas* lebih dekat. Kelompok kedua hanya terdiri atas *J. podagraria*. Marka SSR yang digunakan pada penelitian ini mampu membedakan antarspesies *Jatropha* spp.

*J. montana* merupakan salah satu anggota genus *Jatropha* tipe liar sehingga memiliki hubungan kekerabatan yang cukup jauh dibanding dengan spesies *Jatropha* lainnya (Praseetha et al. 2014). Hal ini sesuai dengan hasil karakterisasi morfologi bahwa *J. montana* memiliki karakter yang sangat berbeda dibanding dengan jenis *Jatropha* lainnya. Bahkan, peneliti lain menempatkan *J. montana* ke dalam genus lain dan diberi nama *Baliospermum solanifolium* (India Biodiversity 2018).

Kemiripan sifat atau jarak genetik antargenotipe dapat digunakan sebagai indeks seleksi tetua persilangan dan dapat dikembangkan untuk melakukan seleksi kombinasi tetua superior (Saparni 2008). Pada kelompok pertama, terdapat dua aksesi *Jatropha* spp. dengan hubungan kekerabatan paling dekat, yaitu aksesi *J. curcas* asal Pulau Bacan dengan *J. curcas* asal Majene, dengan nilai matriks kesamaan genetik sebesar 81,8% (Tabel 7). Kedua genotipe dengan

jarak genetik yang dekat tersebut tidak potensial untuk dijadikan sebagai tetua persilangan karena dapat memperbesar peluang terjadinya *inbreeding*. Pada kelompok kedua, hanya terdapat aksesi *J. podagraria* sehingga dapat disimpulkan bahwa aksesi *J. podagraria* memiliki jarak genetik terjauh dibanding dengan aksesi lainnya. Genotipe dengan jarak genetik yang jauh potensial untuk dijadikan sebagai tetua persilangan yang memperbesar peluang terjadinya heterosis dan diperolehnya progeni superior.

## KESIMPULAN

Analisis karakter morfologi dan molekuler terhadap delapan genotipe *Jatropha* spp. menghasilkan keragaman genetik sedang. Karakterisasi morfologi merekomendasikan *J. podagraria* sebagai genotipe calon tetua persilangan potensial untuk menghasilkan *Jatropha* hibrida unggul dengan kadar minyak tinggi. Analisis komponen utama menghasilkan dua komponen utama dengan proporsi keragaman 68,13%. Delapan karakter morfologi, seperti warna batang, bentuk daun, letak bunga, dan jumlah cabang produktif per tanaman, merupakan karakter yang berkontribusi besar terhadap keragaman total. Analisis

diversitas genetik dengan marka SSR membagi aksesori menjadi dua kelompok utama yang memisahkan *J. podagraria* dari enam genotipe *Jatropha* spp. lainnya. Tiga marka SSR (JcSTS-SSR1, JcSTS-SSR2, dan JcSTS-SSR6) merupakan marka informatif yang dapat digunakan untuk analisis diversitas genetik aksesori *Jatropha* spp.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai melalui DIPA APBN BB Biogen, Balitbangtan, Kementerian TA 2015. Penulis menyampaikan terima kasih kepada Prof. Peerasak Srinives dan Prof. Patcharin Tanya dari Kasetsart University, Thailand atas kesediaannya dalam men-transfer materi genetik beberapa spesies *Jatropha* spp. Penulis juga menyampaikan terima kasih kepada Prof. Suk-Ha Lee dari Seoul National University, Korea Selatan atas ide penelitian yang diberikan, serta Meddy Saputra atas bantuan teknis selama kegiatan penelitian di lapangan.

### KONTRIBUTOR PENULISAN

RTT: kontributor utama, penanggung jawab kegiatan lapangan; KN: kontributor utama, analisis *genotyping*; KM: kontributor anggota; IMT: kontributor anggota; PL: kontributor anggota, penanggung jawab seluruh kegiatan.

### DAFTAR PUSTAKA

- Abdelgadir, H.A., Johnson, S.D. & Van Staden, J. (2012) Pollen viability, pollen germination, and pollen tube growth in the biofuel seed crop *Jatropha curcas* (Euphorbiaceae). *South African Journal of Botany*, 79, 132–139.
- Addinsoft (2011) *XLSTAT-Statistics package for Excel*. [Online] Available from: <http://www.xlstat.com> [Accessed 2 May 2018].
- Afuape, S.O., Nwankwo, I.I.M., Omodamiro, R.A., Njoku, J.C., Ogbonna, C.L. & Uzuegbu, D.C. (2015) Targeted breeding for sweetpotato-based enterprises: Variability, genotype-by-environment interaction, heritability, and correlation studies of important sweetpotato root processing quality traits. *International Journal of Plant Breeding and Genetics*, 9 (4), 206–217.
- Ahkamulloh, A., Murniati, E. & Surahman, M. (2013) Keragaman pertumbuhan dan produksi beberapa aksesori jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) di daerah pesisir pantai. *Buletin Agrohorti*, 1 (1), 34–44.
- Ambrosi, D.G., Galla, G., Purelli, M., Barbi, T., Fabbri, A., Lucretti, S., Sharbel, T.F. & Barcaccia, G. (2010) DNA markers and FCSS analyses shed light on the genetic diversity and reproductive strategy of *Jatropha curcas* L. *Diversity*, 2 (5), 810–836.
- Amkul, K., Panngam, M., Tanya, P., Srinives, P. & Laosatit, K. (2016) Pollen viability and seed set of interspecific hybrids between *Jatropha curcas* × *Jatropha integerrima*. *Genomics and Genetics*, 9, 50–55.
- Balitbangtan (2018) *Pusat genom pertanian Indonesia*. [Online] Tersedia pada: <http://genom.litbang.pertanian.go.id> [Diakses 2 Mei 2018].
- Basha, S.D. & Sujatha, M. (2007) Inter and intra-population variability of *Jatropha curcas* (L.) characterized by RAPD and ISSR markers and development of population-specific SCAR markers. *Euphytica*, 156, 375–386.
- Botstein, D., White, R.L., Skolnick, M. & Davis, R.W. (1980) Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American Journal of Human Genetics*, 32 (3), 314–331.
- Caia, Y., Suna, D., Wud, G. & Peng, J. (2010) ISSR-based genetic diversity of *Jatropha curcas* germplasm in China. *Biomass and Bioenergy*, 34 (12), 1739–1750.
- Doyle, J. (1991) DNA protocols for plants. In: Hewitt, G.M., Johnston, A.W.B. & Young, J.P.W. (eds) *Molecular techniques in taxonomy*. NATO ASI Series (Series H: Cell Biology), vol 57. Springer, Berlin, Heidelberg, 283–293.
- Dyah, T., Anggraeni, A., Satyawan, D., Kang, Y.J., Ha, J., Kim, M.Y. & Lee, S. (2018) Genetic diversity of *Jatropha curcas* collections from different islands in Indonesia. *Plant Genetic Resources*, 16 (4), 334–342.
- Forson, F.K., Oduro, E.K. & Hammond-Donkor, E. (2004) Performance of *Jatropha* oil blends in a diesel engine. *Renewable Energy*, 29 (7), 1135–1145.
- Ghosh, L. & Singh, L. (2011) Variation in seed and seedling characters of *Jatropha curcas* L. with varying zones and provenances. *Tropical Ecology*, 52 (1), 113–122.
- Harimurti, N. & Sumangat, D. (2011) Pengolahan biji jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) menjadi sumber bahan bakar nabati dan pemanfaatan produk samping. *Buletin Teknologi Pertanian*, 7 (1), 48–55.
- Hartati, R.R.S.R.I., Setiawan, A., Heliyanto, B. & Pranowo, D. (2009) Keragaan morfologi dan hasil 60 individu jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) terpilih di kebun percobaan Pakuwon Sukabumi. *Jurnal Litri*, 15 (4), 152–161.
- Haydar, A., Ahmed, M.B., Hannan, M.M. & Razvy, M.A. (2007) Analysis of genetic diversity in some potato varieties grown in Bangladesh. *Middle-East Journal of Scientific Research*, 2 (3), 143–145.
- Hildebrand, C.E., Torney, D.C. & Wagner, R.P. (1994) Informativeness of polymorphic DNA markers. In: Cooper, N.G. (ed.) *The Human Genome Project: Deciphering the blueprint of heredity*. Mill Valley, CA, USA, University Science Books, pp. 100–102. [e-book]

- Available from: <https://fas.org/sgp/othergov/doe/lanl/pubs/00326695.pdf> [Accessed 2 May 2018].
- India Biodiversity (2018) *India biodiversity portal*. [Online] Available from: <https://indiabiodiversity.org> [Accessed 2 May 2018].
- Jamshidi, S.S. & Jamshidi, S.S. (2011) *NTSYSpc 2.02e implementation in molecular biodata analysis (clustering, screening, and individual selection)*. [Online] 4th International Conference on Environmental and Computer Science (ICECS 2011). Singapore, 16–18 September. Available from: <http://www.ipcbee.com/vol19/32-ICECS2011R30001.pdf> [Accessed 2 May 2018].
- King, A.J., He, W., Cuevas, J.A., Freudenberger, M., Ramiaramanana, D. & Graham, I.A. (2009) Potential of *Jatropha curcas* as a source of renewable oil and animal feed. *Journal of Experimental Botany*, 60 (10), 2897–2905.
- Kumar, R.S., Parthiban, K.T., Hemalatha, P., Kalaiselvi, T. & Rao, M.G. (2009) Investigation on cross-compatibility barriers in the biofuel crop *Jatropha curcas* L. with wild *Jatropha* species. *Crop Science*, 49 (5), 1667–1674.
- Laosatit, K., Tanya, P., Muakrong, N. & Srinives, P. (2014) Development of interspecific and intergeneric hybrids among *Jatropha*-related species and verification of the hybrids using EST-SSR markers. *Plant Genetic Resources*. [Online] 12 (S1), S58–S61. Available from: <https://doi.org/10.1017/S1479262114000276> [Accessed 2 May 2018].
- Liu, K. & Muse, S.V. (2005) PowerMarker: An integrated analysis environment for genetic marker analysis. *Bioinformatics*, 21 (9), 2128–2129.
- Mastan, S.G., Sudheer, P.D., Rahman, H., Ghosh, A., Rathore, M.S., Ravi Prakash, Ch. & Chikara, J. (2012) Molecular characterization of intra-population variability of *Jatropha curcas* L. using DNA based molecular markers. *Molecular Biology Reports*, 39 (4), 4383–4390.
- Maurya, R., Gupta, A., Singh, S.K., Rai, K.M., Chandrawati, Sawant, S.V. & Yadav, H.K. (2013) Microsatellite polymorphism in *Jatropha curcas* L. - A biodiesel plant. *Industrial Crops and Products*, 49, 136–142.
- Maurya, R. & Yadav, H.K. (2016) Microsatellite markers based heterozygosity assessment in *Jatropha curcas* L. A potential bioenergy crop. *Tropical Plant Research*, 3 (2), 191–198.
- Mohibbe, A.M., Waris, A. & Nahar, N.M. (2005) Prospects and potential of fatty acid methyl esters of some non-traditional seed oils for use as biodiesel in India. *Biomass and Bioenergy*, 29 (4), 293–302.
- Montes, J.M., Technow, F., Martin, M. & Becker, K. (2014) Genetic diversity in *Jatropha curcas* L. assessed with SSR and SNP markers. *Diversity*, 6 (3), 551–566.
- Muakrong, N., Phetcharat, C., Tanya, P. & Srinives, P. (2014) Breeding field crops for ornamental purpose: A case in *Jatropha* spp. *Agrivita*, 36 (3), 229–234.
- Nietsche, S., Vendrame, W.A., Crane, J.H., Pereira, M.C.T., Costa, A. & Reis, S.T. (2015) Variability in reproductive traits in *Jatropha curcas* L. accessions during early developmental stages under warm subtropical conditions. *GCB Bioenergy*, 7 (1), 122–134.
- Nugroho, K., Reflinur, Lestari, P., Rosdianti, I., Terryana, R.T., Kusmana & Tasma, I.M. (2015) Keragaman genetika empat belas akses kentang (*Solanum tuberosum* L.) berdasarkan marka SSR dan STS. *Jurnal AgroBiogen*, 11 (2), 41–48.
- Nugroho, K., Terryana, R.T., Lestari, P., Mulya, K., & Tasma, I.M. (2017) Keragaman genetik dua puluh akses plasma nutfah *Jatropha* spp. menggunakan marka simple sequence repeat. *Jurnal AgroBiogen*, 13 (1), 17–24.
- Ouattara, B., Ndir, K.N., Gueye, M.C., Diédhieu, I., Barnaud, A., Fonceka, D. & Diouf, D. (2014) Genetic diversity of *Jatropha curcas* L. in Senegal compared with exotic accessions based on microsatellite markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 61 (6), 1039–1045.
- Praseetha, V.P., Prabhu Kumar, K.M., Geetha, S.P., Sadheeshnakumari, S. & Balachandran, I. (2014) Taxonomic and floral variability studies on *Baliospermum solanifolium* (Euphorbiaceae). *Phytodiversity*, 1 (1), 25–30.
- Puslitbangbun (2005) *Deskriptor tanaman perkebunan*. Bogor, Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan.
- Raposo, R. da S., Britto, F.B., Souza, I.G. de B., Carvalho, A.M.F. de, Kobayashi, A.K., Laviola, B.G. & Diniz, F.M. (2015) Development and use of novel microsatellite markers from double-enriched genomic libraries in Guatemalan *Jatropha curcas*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 59, 168–173.
- Ratha, P.K. & Paramathma, M. (2009) Potentials and *Jatropha* species wealth of India. *Current Science*, 97 (7), 4–8.
- Risliawati, A., Riyanti, E.I., Lestari, P., Utami, D.W. & Silitonga, T.S. (2015) Development of SSR marker set to identify fourty two Indonesian soybean varieties. *Jurnal AgroBiogen*, 11 (2), 49–58.
- Sanou, H., Angulo-Escalante, M.A., Martínez-Herrera, J., Konéa, S., Nikiemad, A., Kalinganiree, A. & Nielsens, L.R. (2015) Loss of genetic diversity of *Jatropha curcas* L. through domestication: Implications for its genetic improvement. *Crop Science*, 55 (2), 749–759.
- Santos, D.N.D., Ferreira, J.L., Setotaw, T.A., Cançado, G.M.A., Pasqual, M., Londe, L.C.N. & Vendrame, W.A. (2016) Genetic structure from the oldest *Jatropha* germplasm bank of Brazil and contribution for the genetic improvement. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 88 (4), 2363–2374.
- Saparni, S. (2008) *Identifikasi sifat morfologi tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) akses Jawa di kebun induk jarak pagar Pakuwon*. Skripsi S1. Universitas Negeri Sebelas Maret.

- Saptadi, D., Hartati, S.R.R., Setiawan, A., Heliyanto, B. & Sudarsono. (2011) Pengembangan marka *simple sequence repeat* untuk *Jatropha* spp. *Jurnal Littri*, 17 (4), 140–149.
- Satyawan, D. & Tasma, I.M. (2011) Genetic diversity analysis of *Jatropha curcas* provenances using randomly amplified polymorphic DNA markers. *Jurnal AgroBiogen*, 7 (1), 47–55.
- Shabanimofrad, M., Rafii, M.Y., Wahab, P.E.M., Biabani, A.R. & Latif, M.A. (2013) Phenotypic, genotypic, and genetic divergence found in 48 newly collected Malaysian accessions of *Jatropha curcas* L. *Industrial Crops and Products*, 42, 543–551.
- Shuit, S.H., Lee, K.T., Kamaruddin, A.H. & Yusup, S. (2010) Reactive extraction and in situ esterification of *Jatropha curcas* L. seeds for the production of biodiesel. *Fuel*, 89 (2), 527–530.
- Sinha, P., Islam, M.A., Negi, M.S. & Tripathi, S.B. (2015) Development of novel microsatellite markers in *Jatropha curcas* and evaluation of their cross-species transferability. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 85 (4), 1011–1016.
- Somantri, I. H., Silitonga, T.S., Budiarti, S.G., Rais, S.A., Hakim, L., Tintin, S. & Dewi, N. (2002) Karakterisasi molekuler plasma nutfah tanaman pangan. Dalam: *Seminar Hasil Penelitian Rintisan dan Bioteknologi Tanaman: Prosiding seminar*. Bogor, pp. 66–74.
- Surahman, M., Santosa, E. & Nisyah, F.N. (2009) Karakterisasi dan analisis gerombol plasma nutfah jarak pagar Indonesia dan beberapa negara lain menggunakan marka morfologi dan molekuler. *Jurnal Agronomi Indonesia*, 37 (3), 256–264.
- Tanya, P., Dachapak, S., Tar, M.M. & Srinives, P. (2011) New microsatellite markers classifying nontoxic and toxic *Jatropha curcas*. *Journal of Genetics*, 90, 76–78.
- Tasma, I.M. (2017) Pendekatan bioteknologi dan genomika untuk perbaikan genetik tanaman jarak pagar sebagai penghasil bahan bakar nabati. *Jurnal AgroBiogen*, 13 (2), 123–136.
- Vischi, M., Steluta, R. & Mario, B. (2013) Evaluation of genetic diversity between toxic and non toxic *Jatropha curcas* L. accessions using a set of simple sequence repeat (SSR) markers. *African Journal of Biotechnology*, 12 (3), 265–274.
- Wang, S., Liu, Y., Liying, M., Liu, H., Tang, Y., Wu, L. & Pang, X. (2014) Isolation and characterization of microsatellite markers and analysis of genetic diversity in Chinese jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.). *PLOS One*. [Online] 9 (6). Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0099842> [Accessed 2 May 2018].
- Wijaya, A., Susantidiana, Harun, M.U. & Hawalid, H. (2009) Flower characteristics and the yield of *Jatropha* (*Jatropha curcas* L.) accessions. *HAYATI Journal of Biosciences*, 16 (4), 123–126.
- Yaowalak, N., Wongkaew, A., Phumichai, T., Kongsiri, N., Kaveeta, R., Reewongchai, T. & Phumichai, C. (2011) Genetic diversity of physic nut (*Jatropha curcas* L.) revealed by SSR markers. *Crop Science and Biotechnology*, 14 (2), 105–110.
- Zapico, F.L., Nival, S.K., Aguilar, C.H. & Eroy, M.N. (2011) Phenotypic diversity of *Jatropha curcas* L. from diverse origins. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 5 (2), 215–218.
- Zubieta, C.G., Ghiselli, L., Benedettelli, S. & Palchetti, E. (2009) Development of novel SSR markers from a genomic microsatellite library. [Online] 53rd Italian Society of Agricultural Genetics Annual Congress. Torino, Italy, 16–19 September. Available from: [http://www.geneticagraria.it/attachment/SIGA\\_2009/7\\_60.pdf](http://www.geneticagraria.it/attachment/SIGA_2009/7_60.pdf) [Accessed 2 May 2018].