

Keragaman Genetik Beberapa Genotipe Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) Berdaya Hasil Tinggi Berdasarkan Karakter Morfologi, Agronomi, dan Isozim

Iswari S. Dewi^{1*}, Yusie Arisanti², Bambang S. Purwoko³, Hariyadi³, dan M. Syukur³

¹Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Jl. Tentara Pelajar 3A, Bogor 16111

²Direktorat Jenderal Perkebunan, Kementerian Pertanian, Jl. Harsono R.M. No. 3 Pasar Minggu, Jakarta Selatan 12550

³Departemen Agronomi dan Hortikultura, Institut Pertanian Bogor, Jl. Meranti, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680

Telp. (0251) 8629353; Faks. (0251) 8629353; *E-mail: iswari.dewi01@gmail.com

Diajukan: 16 Oktober 2012; Diterima: 15 Januari 2013

ABSTRACT

Genetic Variation of Several Genotypes of High Yielding Physic Nut (*Jatropha curcas* L.) Based on Morphology, Agronomy and Isozymes Characters. *Iswari S. Dewi, Yusie Arisanti, Bambang S. Purwoko, Hariyadi, and M. Syukur.* The interest in using *Jatropha curcas* L. from the family Euphorbiaceae for the production of biofuel is rapidly growing. The research objective was to determine genetic variation of several high yielding physic nuts based on their morphology, agronomy, and isozyme characters. The research used Completely Randomized Design with three replications. The treatment was consisted of 8 genotypes i.e. IP-1A, IP-1M, IP-2P, Lombok Timur, Lombok Tengah, Lombok Barat, Sumbawa, and Bima. Analysis of isozyme of the eight genotypes was also conducted according to 5 enzyme systems, i.e. peroxidase, esterase, aspartate aminotransferase, malate dehydrogenase, and alcohol dehydrogenase. Observation was done on qualitative and quantitative characters as well as banding pattern derived-isozymes. The results showed that genetic variation was low when based on qualitative characters and isozyme (0-25%) but relatively high when based on selected quantitative characters analysis (17-81%). Analysis of combined qualitative, quantitative, and isozyme characters still gave low genetic variation (6-33%). Based on the quantitative characters at similarity coefficient of 46% the genotypes can be divided into three clusters. *Improved population* genotypes, i.e. IP-1A, IP-1M, and IP-2P were placed in 3 different clusters, while other genotypes from NTB area were grouped in the same cluster. Therefore, selection among population of the same ecotype based on agronomic characters such as yield components, yield and oil content was suitable in *Jatropha* improvement, especially when genetic variation was low. Furthermore, introduction, mutation and crossing are suggested to increase genetic variation of current *Jatropha* collection.

Keywords: *Jatropha curcas* L., morphology, agronomy, isozymes, genetic variation.

ABSTRAK

Keragaman Genetik Beberapa Genotipe Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) Berdaya Hasil Tinggi Berdasarkan Karakter Morfologi, Agronomi, dan Isozim. *Iswari S. Dewi, Yusie Arisanti, Bambang S. Purwoko, Hariyadi, dan M. Syukur.* Keperluan terhadap bahan bakar menyebabkan jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) dari famili Euphorbiaceae sebagai penghasil *biofuel* semakin menarik untuk dikembangkan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mempelajari keragaman genetik beberapa genotipe unggul jarak pagar berdasarkan karakter morfologi, agronomi, dan isozim. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Kelompok dengan 3 ulangan. Perlakuan terdiri atas 8 genotipe jarak pagar, yaitu IP-1A, IP-1M, IP-2P, Lombok Timur, Lombok Tengah, Lombok Barat, Sumbawa, dan Bima. Analisis isozim kedelapan genotipe dilakukan untuk 5 sistem enzim, yaitu peroksidase, esterase, aspartat aminotransferase, malat dehidrogenase, dan alkohol dehidrogenase. Pengamatan dilakukan terhadap karakter kualitatif dan kuantitatif serta pola pita hasil isozim. Hasil penelitian menunjukkan bahwa keragaman genetik genotipe yang diuji rendah, berdasarkan karakter dan isozim (0-25%). Keragaman genetik yang relatif tinggi diperoleh dari analisis terhadap karakter kuantitatif terpilih (17-81%). Namun analisis berdasarkan kombinasi karakter kualitatif, kuantitatif, dan isozim tetap rendah (6-33%). Berdasarkan analisis karakter kuantitatif pada koefisien kemiripan 46%, kedelapan genotipe jarak pagar dapat dikelompokkan menjadi tiga kelompok. Tampak bahwa genotipe yang diseleksi dari *improved population*, yaitu IP-1A, IP-1M, and IP-2P terbagi dalam tiga kelompok berbeda, sementara genotipe asal NTB terdapat pada satu kelompok. Jadi, seleksi di antara populasi jarak yang berasal dari wilayah (ekotipe) yang sama berdasarkan karakter agronomi seperti komponen hasil, hasil, dan kandungan minyak sangat sesuai untuk program perbaikan jarak pagar di Indonesia yang keragamannya genetiknya rendah. Introduksi, mutasi dan persilangan sangat dianjurkan untuk lebih meningkatkan keragaman genetik koleksi jarak pagar.

Kata kunci: *Jatropha curcas* L., morfologi, agronomi, isozim, keragaman genetik.

PENDAHULUAN

Jarak pagar (*Jatropha curcas* L., famili Euphorbiaceae) adalah salah satu tanaman sumber energi alternatif yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan bakar nabati (*biofuel*) pengganti solar yang bersifat terbarukan dan ramah lingkungan (Heller, 1996; Achten *et al.*, 2008). Jarak pagar yang disebut sebagai emas hijau dalam dunia industri *biofuel* menjadi lebih menarik untuk dikembangkan dibandingkan dengan tanaman penghasil minyak lainnya, karena beradaptasi luas, pertumbuhan cepat, mudah diperbaiki, kandungan minyak tinggi, dan harga biodiesel yang dihasilkan lebih murah karena tidak memerlukan teknologi tinggi (Sujatha *et al.*, 2008; Kumar dan Sharma, 2008). Wilayah pengembangan jarak pagar di Indonesia tersebar mulai dari daerah beriklim sangat kering hingga sangat basah, namun diutamakan di KTI, yaitu NTB, NTT, Sulawesi, Papua, dan sebagian Jawa (Mulyani *et al.*, 2006; Parwata *et al.*, 2010).

Untuk mengembangkan tanaman jarak pagar, diperlukan bahan tanaman berproduksi tinggi, cepat berproduksi, dan beradaptasi luas terhadap lingkungan yang tidak menguntungkan (Hasnam dan Mahmud, 2006). Genotipe jarak pagar unggul yang dikembangkan oleh Puslitbang Perkebunan dari seleksi terhadap *improved population* di antaranya genotipe IP-1A dan IP-1M yang sesuai berturut-turut untuk daerah beriklim kering dan sedang, sedangkan genotipe IP-2P yang sesuai untuk daerah beriklim basah (Hasnam, 2006; 2007; Lapanjang *et al.*, 2008). Jarak pagar unggul lainnya yang juga sesuai untuk daerah iklim kering adalah genotipe Lombok Barat, Lombok Tengah, Lombok Timur, Sumbawa, dan Bima (Santoso *et al.*, 2008; Santoso, 2009).

Dalam rangka pengembangan jarak pagar, informasi keanekaragaman genetik di dalam suatu populasi tanaman sangat diperlukan. Studi keragaman genetik berdasarkan morfologi dan agronomi telah dilakukan pada plasma nutfah jarak pagar Indonesia. Keragaman ditemukan pada tinggi tanaman, lingkar batang, percabangan, umur berbunga, jumlah infloresen, jumlah tandan buah, jumlah buah, jumlah biji serta kadar minyak biji (Hartati, 2008; Sudarmo *et al.*, 2007; Santoso, 2011). Hampir semua keragaman yang diperoleh belum menunjukkan keragaman genetik jarak pagar yang sesungguhnya karena adanya pengaruh interaksi genotipe dan lingkungan (Heller, 1996; Kaushik *et al.*, 2007).

Menurut Bustamam dan Moeljopawiro (1998), keragaman genetik suatu populasi dapat pula diamati pada tingkat protein dan tingkat DNA. Analisis keragaman genetik pada tingkat protein dapat dilakukan

dengan analisis isozim. Penggunaan penanda isozim mempunyai kelebihan karena isozim diatur oleh gen tunggal dan bersifat kodominan dalam pewarisan, bersegregasi secara normal menurut nisbah Mendel, kolinier dengan gen dan merupakan produk langsung gen. Oleh karenanya, penanda ini bersifat stabil karena tidak dipengaruhi oleh faktor lingkungan, lebih cepat dan akurat karena tidak perlu menunggu tanaman sampai berproduksi (Griffin dan Palmer, 1995; Mansyah *et al.*, 1999; Shukla *et al.*, 2004). Penelitian ini bertujuan memperoleh informasi keragaman genetik delapan genotipe jarak pagar berdaya hasil tinggi berdasarkan karakter morfologi, agronomi, dan isozim.

BAHAN DAN METODE

Analisis Karakter Morfologi dan Agronomi

Percobaan menggunakan Rancangan Acak Kelompok dengan tiga ulangan. Perlakuan adalah delapan genotipe jarak pagar, yaitu Lombok Timur, Lombok Barat, Lombok Tengah, Sumbawa Besar, dan Bima, serta tiga genotipe hasil pengembangan Puslitbang Perkebunan, yaitu IP-1A, IP-1M, dan IP-2P. Tanaman berasal dari stek, sehingga *true to type*. Petak berukuran 6 m x 8 m dan jarak tanam 2 m x 2 m. Budi daya dilakukan sesuai juknis dari Puslitbang Perkebunan (Mahmud *et al.*, 2008). Penanaman dilaksanakan di Kebun Percobaan Cikabayan-Institut Pertanian Bogor pada ketinggian 216 m di atas permukaan laut, 06,55 LS dan 106,72 BT.

Pengamatan pada fase vegetatif dan generatif meliputi karakter kuantitatif dan karakter kualitatif. Peubah pada karakter kualitatif adalah warna batang muda dan tua, bentuk batang, bentuk daun, bentuk ujung daun, tipe tulang daun, bulu pada daun muda, warna daun muda dan tua, tekstur daun muda dan tua, warna kepala sari dan kepala putik, warna buah muda dan buah masak, bentuk buah, warna biji, dan bentuk biji. Peubah pada karakter kuantitatif adalah jumlah cabang primer, jumlah cabang sekunder, jumlah cabang produktif, sudut cabang primer, diameter pangkal batang, panjang ruas, panjang daun muda dan daun tua, lebar daun muda dan daun tua, jumlah daun saat muncul bunga pertama, umur berbunga, jumlah bunga jantan dan bunga betina per malai, jumlah buah per malai, persentase bunga betina menjadi buah, jumlah malai per tanaman, tebal daging buah, panjang buah masak, diameter buah masak, umur panen, jumlah buah per tanaman, bobot basah buah, panjang biji, tebal biji, jumlah biji per buah, jumlah biji per tanaman, bobot 100 biji, bobot basah biji rata-rata, bobot kering biji rata-rata, bobot kering biji per tanaman, bobot kering biji per petak, bobot kering biji per

hektar, kadar minyak kernel, dan kadar minyak biji panen pertama dan kedua. Data karakter kuantitatif diolah menggunakan analisis ragam (ANOVA) yang jika berbeda nyata dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan pada taraf 5%, sedangkan untuk data karakter kualitatif dilakukan identifikasi terhadap perubahnya.

Analisis Isozim

Bahan untuk pembuatan gel pati, yaitu gel pati, bufer gel (L-histidin monohidrat 5 mM). Bahan eksstraksi enzim, yaitu pasir kuarsa, bufer pengekstrak, untuk elektroforesis, yaitu gel pati, bufer elektroda, bahan pewarnaan dan fiksasi, yaitu larutan fiksasi dan pewarna peroksidase (PER), esterase (EST), aspartat aminotransferase (AAT), malat dehidrogenase (MDH), dan alkohol dehidrogenase (ADH). Analisis isozim dilaksanakan di Laboratorium Hayati, Pusat Studi Bioteknologi dan Sumberdaya Hayati IPB. Kegiatan analisis isozim meliputi penyiapan bahan tanaman (daun muda), pembuatan bufer pengekstrak, bufer gel dan bufer elektroda, pembuatan gel pati, ekstraksi enzim, elektroforesis, pembuatan larutan pewarna, pewarnaan dan pencucian serta pengumpulan data (Micales dan Bonde, 1995). Pola pita isozim yang tampak di gambar pada plastik transparan, hasil foto diamati dan diukur jarak pergerakan pita dari titik awal. Hasil pengukuran jarak pergerakan ditentukan pola pada Rf (*relative electrophoresis mobility*) menurut Sastrosumarjo *et al.* (2006).

$$Rf = \frac{\text{Jarak pergerakan pita dari tempat awal}}{\text{Jarak pergerakan warna pelacak dari awal}}$$

Analisis Kekerabatan

Kemiripan antar genotipe dicari berdasarkan pada koefisien kemiripan (*similarity coefficient*), sedangkan analisis pengelompokan jarak genetik dilakukan dengan metode pengelompokan berdasarkan rata-rata

aritmatik tidak terboboti (UPGMA) menggunakan program *Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System* (NTSYS) versi 2.02 (Rohlf, 1998).

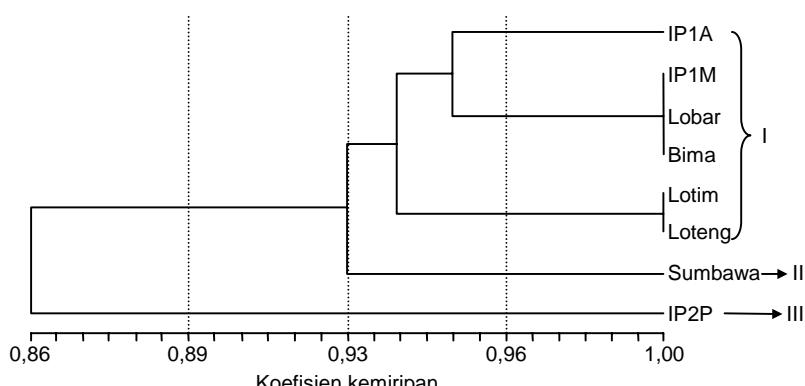
Analisis Kesesuaian

Kesesuaian pengelompokan genotipe dilakukan dengan menggunakan fungsi *MxComp* pada program NTSYS (*Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System*) versi 2.02 (Rohlf, 1998). Kesesuaian pengelompokan ditentukan atas kriteria *goodness of fit* berdasarkan nilai korelasi menurut Rolf (1998), yaitu sangat sesuai ($r \geq 0,9$), sesuai ($0,8 < r < 0,9$), tidak sesuai ($0,7 < r < 0,8$), sangat tidak sesuai ($r < 0,7$).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengelompokan Berdasarkan Data Kualitatif

Matrik kemiripan karakter kualitatif menunjukkan rentang kemiripan antara 0,81-1,00. Nilai koefisien kemiripan tertinggi berada pada genotipe Lombok Barat dengan IP-1M, Bima dengan IP-1M, Lombok Timur dengan Lombok Tengah, dan Lombok Barat dengan Bima. Nilai koefisien kemiripan terendah berada pada genotipe IP-2P dengan Lombok Timur. Hasil analisis data dari karakter kualitatif berdasarkan koefisien kemiripan menghasilkan dendrogram yang menunjukkan kedekatan genotipe jarak pagar memiliki kemiripan antara 86-100% atau keragaman sebesar 0-14% (Gambar 1). Pada tingkat kemiripan 93% diperoleh tiga kelompok. Kelompok I terdiri atas genotipe IP-1A, IP-1M, Lombok Barat, Bima, Lombok Timur, dan Lombok Tengah. Kelompok II dan III hanya terdiri atas satu genotipe, yaitu berturut-turut genotipe Sumbawa dan IP-2P. Nilai korelasi matrik kesamaan *MxComp* adalah sebesar $r = 0,887$, artinya dendrogram yang dihasilkan dengan *goodness of fit* sesuai menggambarkan pengelompokan delapan genotipe jarak pagar tersebut.



Gambar 1. Dendrogram delapan genotipe jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) berdasarkan karakter kualitatif.
Lobar = Lombok Barat, Lotim = Lombok Timur, Loteng = Lombok Tengah.

Kelompok I mempunyai kesamaan pada karakter kualitatif seperti tipe tanaman, warna batang muda, warna batang tua, bentuk batang, bentuk daun, panjang pangkal daun berlekuk, bentuk ujung daun, tipe tulang daun, bulu pada daun muda, warna daun muda, tekstur permukaan daun bagian atas dan bagian bawah pada daun muda dan daun tua, warna kepala sari, warna kepala putik, warna buah muda, warna buah masak, bentuk buah dan bentuk biji. Hal ini di-duga karena semua genotipe tersebut berasal dari populasi jarak pagar yang diperoleh dari hasil eksplorasi di NTB, sehingga karakter kualitatifnya mempunyai kesamaan (Hasnam, 2006; 2007; Santoso *et al.*, 2008). Genotipe IP-2P tidak berada pada kelompok I dan II kemungkinan karena adanya perbedaan dalam warna daun muda, warna daun tua, dan bentuk buah. Warna daun muda umumnya berwarna coklat, tetapi genotipe IP-2P mempunyai warna daun muda hijau kekuningan, daun tua berwarna hijau, dan bentuk buah agak elips (Tabel 1 dan 2). Genotipe IP-2P berasal dari populasi Lampung yang karakter kualitatifnya berbeda dengan genotipe uji lainnya yang merupakan hasil eksplorasi di NTB (Hasnam, 2007).

Pengelompokan Berdasarkan Data Kuantitatif

Pengelompokan berdasarkan karakter kuantitatif menggunakan karakter pada batang, daun, bunga, buah, ukuran biji, bobot biji, dan kadar minyak yang menunjukkan perbedaan nyata pada taraf $\alpha = 5\%$ (Tabel 3). Matrik kemiripan karakter kualitatif menunjukkan rentang kemiripan antara 0,00-0,83. Nilai koefisien kemiripan tertinggi terdapat pada genotipe Lombok Timur dan Lombok Tengah, sedangkan nilai

koefisien kemiripan terendah pada genotipe IP-2P dengan Lombok Barat dan IP-2P dengan Bima. Hasil analisis data dari karakter kuantitatif berdasarkan koefisien kemiripan yang diukur dengan menggunakan analisis pengelompokan jarak genetik menghasilkan suatu dendrogram. Kedelapan genotipe jarak pagar memiliki kemiripan berkisar antara 9-83% atau terdapat keragaman dalam karakter kuantitatif sebesar 17-81% (Gambar 2).

Berdasarkan analisis data kuantitatif kedelapan genotipe jarak pagar pada tingkat kemiripan 46% dapat dikelompokkan menjadi tiga kelompok. Kelompok I hanya terdiri atas genotipe IP-1A. Kelompok II terdiri atas genotipe IP-1M, Lombok Timur, Lombok Tengah, Bima, Lombok Barat dan Sumbawa. Genotipe IP-2P berdasarkan karakter kuantitatif termasuk dalam kelompok III (Gambar 2). Nilai korelasi matriks kesamaan *MxComp* sebesar $r = 0,975$, artinya dendrogram yang dihasilkan dengan *goodness of fit* sangat sesuai menggambarkan pengelompokan delapan genotipe jarak pagar tersebut.

Jika dilihat dari asal pembentukannya, genotipe IP-1M dan IP-1A merupakan hasil seleksi dari IP-1 yang berasal dari NTB dan Jawa Timur. Genotipe IP-1M ditanam dan diseleksi di Kebun Induk Jarak Pagar (KIJP) Muktiharjo-Pati untuk pengembangan di wilayah iklim sedang, sedangkan IP-1A ditanam dan diseleksi di KIJP Asembagus-Situbondo untuk pengembangan di wilayah iklim kering. Genotipe IP-2P merupakan hasil seleksi dari IP-2 yang berasal dari Indonesia bagian barat yang kemudian ditanam di KIJP Pakuwon-Sukabumi untuk pengembangan di wilayah beriklim basah (Hasnam, 2007).

Tabel 1. Karakter daun beberapa genotipe jarak pagar.

| Genotipe | Warna daun muda | Warna daun tua | Tekstur daun muda dan tua |
|---------------|------------------|----------------|---------------------------|
| IP-1A | Coklat | Hijau | Licin |
| IP-1M | Coklat | Hijau muda | Licin |
| IP-2P | Hijau kekuningan | Hijau | Licin |
| Lombok Timur | Coklat | Hijau muda | Licin |
| Lombok Barat | Coklat | Hijau muda | Licin |
| Lombok Tengah | Coklat | Hijau muda | Licin |
| Sumbawa Besar | Coklat | Hijau muda | Licin |
| Bima | Coklat | Hijau muda | Licin |

Tabel 2. Karakter buah beberapa genotipe jarak pagar.

| Genotipe | Warna buah muda | Warna buah masak | Bentuk buah |
|---------------|-----------------|------------------|-------------|
| IP-1A | Hijau muda | Kuning | Bulat |
| IP-1M | Hijau muda | Kuning | Bulat |
| IP-2P | Hijau muda | Kuning | Agak elips |
| Lombok Timur | Hijau muda | Kuning | Bulat |
| Lombok Barat | Hijau muda | Kuning | Bulat |
| Lombok Tengah | Hijau muda | Kuning | Bulat |
| Sumbawa Besar | Hijau muda | Kuning | Agak elips |
| Bima | Hijau muda | Kuning | Bulat |

Tabel 3. Sidik ragam karakter kuantitatif batang, daun, bunga, buah, ukuran biji, bobot biji, dan kadar minyak pada delapan genotipe jarak pagar.

| Sumber keragaman | db | Kuadrat tengah | | | | | | |
|------------------------------|-------------------------|-----------------|------------|------------|-----------------------|-------------|-------------|-------------|
| | | Karakter batang | | | | | | |
| | | JCPR 12 BST | JCS 12 BST | JCP 12 BST | SCP | TTB | DPB 6 BST | PR |
| Ulangan Genotipe Galat | 2 | 0,49tn | 1,63tn | 3,69* | 17,47tn | 7,54tn | 12,75tn | 0,36** |
| | 7 | 1,05tn | 7,49** | 17,93** | 15,17* | 102,25tn | 4,03tn | 0,02tn |
| | 14 | 1,48 | 1,11 | 0,92 | 5,53 | 40,29 | 7,19 | 0,02 |
| Karakter daun | | | | | | | | |
| Ulangan Genotipe Galat | PTD | | PD | | LD | | JDSMBP | |
| | Muda | Tua | Muda | Tua | Muda | Tua | | |
| | 2 | 0,71tn | 6,06tn | 0,20tn | 3,58** | 0,57tn | 4,01** | 60,76tn |
| Ulangan Genotipe Galat | 7 | 1,27tn | 4,13tn | 0,57tn | 0,22tn | 0,53tn | 0,44tn | 756,24** |
| | 14 | 1,59 | 3,89 | 0,43 | 0,48 | 0,55 | 0,61 | 86,41 |
| Karakter bunga | | | | | | | | |
| Ulangan Genotipe Galat | UB | | JBJM | | JBBM | | JBM | |
| | 2 | 172,40* | | 155,51tn | | 0,58tn | 0,41tn | 12,38tn |
| | 7 | 640,74** | | 524,63* | | 0,42tn | 0,39tn | 29,58tn |
| | 14 | 40,69 | | 162,76 | | 0,26 | 0,21 | 10,48 |
| Karakter buah | | | | | | | | |
| Ulangan Genotipe Galat | TDB | | PBM | | DBM | | UP | |
| | 2 | 0,17tn | | 0,53tn | | 0,73tn | 87,20tn | 203,01tn |
| | 7 | 0,15tn | | 0,99tn | | 0,41tn | 596,18** | 2.552,21** |
| | 14 | 0,16 | | 0,74 | | 0,72 | 113,74 | 168,72 |
| Karakter ukuran biji | | | | | | | | |
| Ulangan Genotipe Galat | PB | | TB | | JBB | | JBT | |
| | 2 | 0,26tn | | 0,09tn | | 0,01tn | 1.876,46tn | 0,95tn |
| | 7 | 1,74** | | 0,03tn | | 0,01tn | 18.709,89** | 15,60* |
| | 14 | 0,38 | | 0,04 | | 0,05 | 1.642,03 | 4,34 |
| Karakter bobot biji | | | | | | | | |
| Ulangan Genotipe Galat | BBB | | BKB | | BKBT | | BKBP | |
| | 2 | 0,000007tn | | 0,00125tn | | 1.612,93tn | 0,23tn | 10.080,80tn |
| | 7 | 0,000740tn | | 0,00295tn | | 10.986,58** | 1,58** | 68.666,15** |
| | 14 | 0,001124 | | 0,00177 | | 1.134,99 | 0,16 | 7.093,70 |
| Karakter kadar minyak | | | | | | | | |
| Ulangan Genotipe Galat | Kadar minyak kernel (%) | | | | Kadar minyak biji (%) | | | |
| | Panen 1 | | Panen 2 | | Panen 1 | | Panen 2 | |
| | 2 | 1,55tn | | 2,22tn | | 1,86tn | 2,78tn | |
| Ulangan Genotipe Galat | 7 | 11,70tn | | 11,67tn | | 6,16* | 6,91* | |
| | 14 | 5,44 | | 5,14 | | 1,86 | 2,59 | |

* = nyata pada taraf 5%, ** = nyata pada taraf 1%, tn = tidak nyata, BST = bulan setelah tanam, JCPR = jumlah cabang primer, JCS = jumlah cabang sekunder, JCP = jumlah cabang produktif, SCP = sudut cabang primer, TTB = tinggi tanaman berbunga, DPB = diameter pangkal batang, PR = panjang ruas, PTD = panjang tangkai daun, PD = panjang daun, LD = lebar daun, JDSMBP = jumlah daun saat muncul bunga pertama, UB = umur berbunga, JB JM = jumlah bunga jantan/malai, JBBM = jumlah bunga betina/malai, JBM = jumlah buah/malai, BBMB = bunga betina menjadi buah, JTT = jumlah tandan/tanaman, TDB = tebal daging buah, PBM = panjang buah masak, DBM = diameter buah masak, UP = umur panen, JBT = jumlah buah/tanaman, BB = bobot buah, PB = panjang biji, TB = tebal biji, JBB = jumlah biji/buah, JBT = jumlah biji/tanaman, B100 = bobot 100 biji, BBB = bobot basah biji, BKB = bobot kering biji, BKBT = bobot kering biji per tanaman, BKBP = bobot kering biji per petak, BKBH = bobot kering biji per hektar.

Pengelompokan Berdasarkan Data Isozim

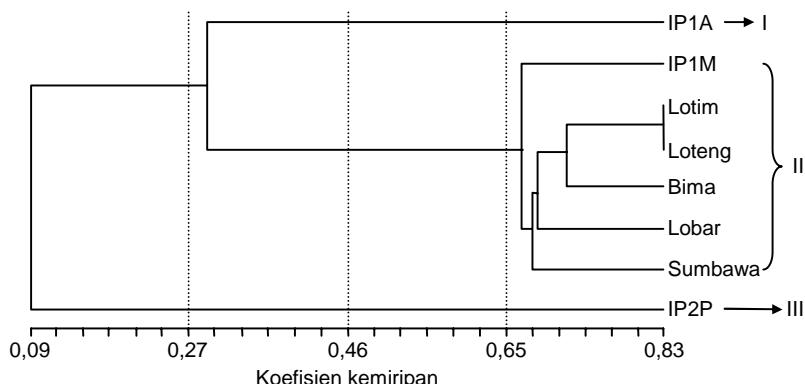
Kelima sistem enzim yang diuji memberikan polimorfisme pada pola pitanya (Gambar 3-7). Setiap isoizom bermuatan listrik berbeda karena perubahan urutan asam amino penyusunnya, sehingga polimorfisme isoizom akan tampak dalam jumlah variasi pola

pita yang berbeda pada gel elektroforesis yang diwarnai dengan pewarna spesifik untuk setiap enzim (Hartana, 2003). Pola pita yang muncul pada elektroforesis dengan pewarna histokimia terjadi karena adanya aktivitas enzimatis (Micales dan Bonde, 1995).

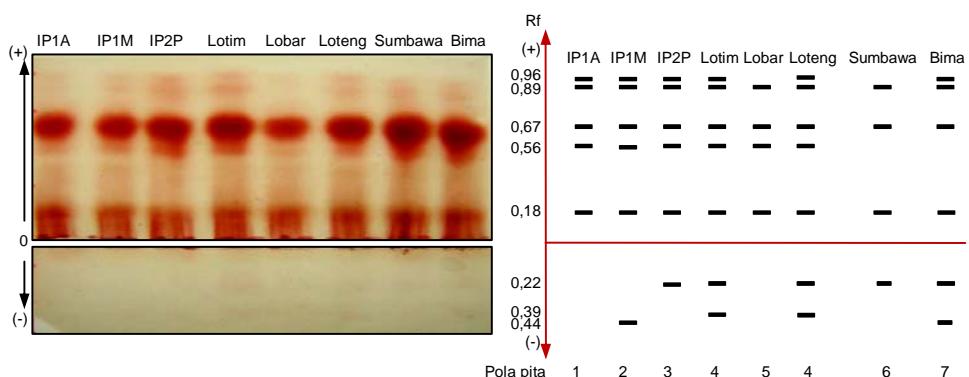
Hasil analisis isozim dengan enzim peroksidase (PER) menunjukkan adanya dua daerah aktif. Dari kelima sistem enzim yang diuji, variasi pola pita yang terbanyak (7 variasi) ditunjukkan oleh enzim PER (Gambar 3). Genotipe IP-1A, IP-1M, IP-2P, Lombok Barat, Sumbawa, dan Bima memiliki pola pita yang saling berbeda satu dengan yang lain, sementara itu genotipe Lombok Timur dan Lombok Tengah memiliki variasi pola pita yang sama.

Enzim esterase (EST) menghasilkan 4 variasi pola pita dengan empat sampai enam alel yang berada dalam satu daerah aktif (Gambar 4). Genotipe IP-1A, IP-2P, Lombok Tengah, Sumbawa, dan Bima mempunyai variasi pola pita yang sama. Variasi pola pita berbeda dimiliki oleh genotipe IP-1M, Lombok Timur, dan Lombok Barat.

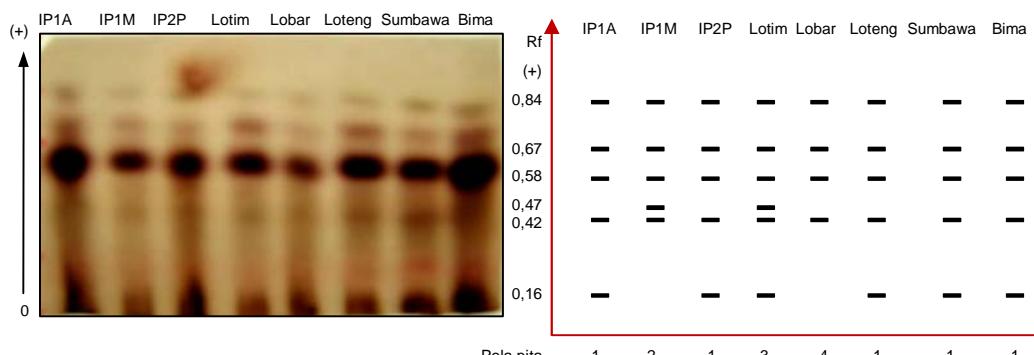
Enzim alkohol dehidrogenase (ADH) membedakan kedelapan genotipe jarak pagar ke dalam tiga



Gambar 2. Dendrogram delapan genotipe jarak pagar berdasarkan karakter kuantitatif. Lobar = Lombok Barat, Lotim = Lombok Timur, Loteng = Lombok Tengah.



Gambar 3. Variasi (kiri) dan interpretasi (kanan) pola pita isozim PER pada delapan genotipe jarak pagar. Lobar = Lombok Barat, Lotim = Lombok Timur, Loteng = Lombok Tengah.



Gambar 4. Variasi (kiri) dan interpretasi (kanan) pola pita isozim EST pada delapan genotipe jarak pagar. Lobar = Lombok Barat, Lotim = Lombok Timur, Loteng = Lombok Tengah.

variasi pola pita yang berada dalam satu daerah aktif dengan satu sampai tiga alel. Genotipe Bima, Sumbawa, Lombok Tengah, Lombok Timur, IP-2P, dan IP-1M memiliki variasi pola pita yang sama. Variasi pola pita berbeda dimiliki oleh genotipe Lombok Barat, dan IP-1A. Hasil analisis isozim genotipe jarak pagar dengan ADH disajikan pada Gambar 5.

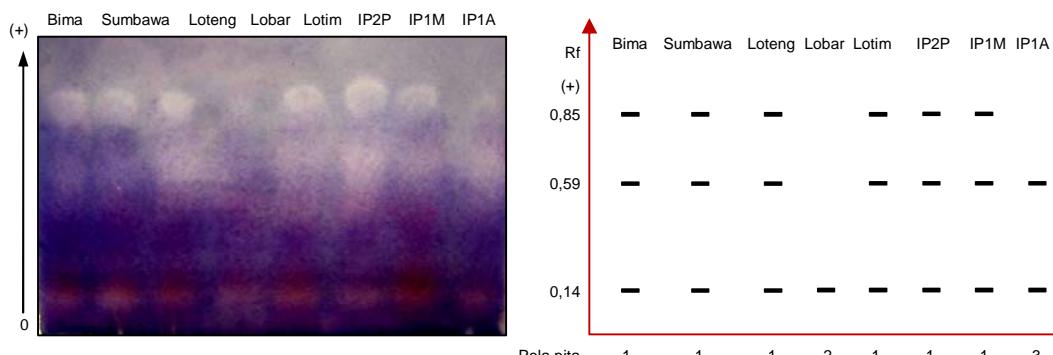
Pada enzim malat dehidrogenase (MDH) delapan genotipe jarak pagar yang diamati hanya dibedakan menjadi dua pola pita yang berada dalam satu daerah aktif dengan dua sampai tiga alel. Genotipe IP-1A, IP-1M, IP-2P, Lombok Timur, Lombok Tengah, Sumbawa, dan Bima memiliki kesamaan variasi pola pita, yaitu pola pita pertama dengan masing-masing genotipe memiliki tiga alel. Genotipe Lombok Barat hanya mempunyai pola pita kedua dan memiliki dua alel (Gambar 6).

Seperi halnya enzim MDH, enzim aspartat aminotransferase (AAT) membedakan genotipe jarak pagar yang diamati ke dalam dua variasi pola pita dengan satu daerah aktif dan memiliki dua sampai tiga alel. Genotipe IP-1A, IP-1M, IP-2P, Lombok Barat, dan Bima memiliki variasi pola pita yang sama, yaitu pola pita ketujuh dengan masing-masing genotipe memiliki dua alel. Genotipe Lombok Timur, Lombok Tengah,

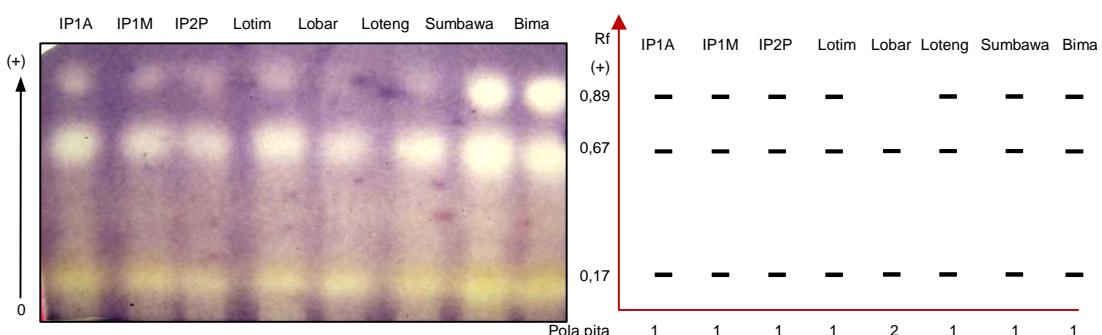
dan Sumbawa memiliki variasi pola pita kedua dengan masing-masing tiga alel. Hasil analisis isozim genotipe jarak pagar dengan enzim AAT disajikan pada Gambar 7.

Pola pita isozim yang polimorfik dapat diinterpretasikan sebagai susunan genetik dari individu, karena enzim adalah produk langsung dari gen. Perbedaan pola pita pada masing-masing genotipe berkaitan dengan perbedaan susunan asam amino enzim-enzim yang dianalisis dan susunan asam amino yang membentuk protein ini disandi oleh susunan basa nukleotida dalam DNA yang khas untuk setiap jenis protein atau enzim (Wendel dan Weeden, 1989). Oleh karena itu tidak setiap enzim akan cocok untuk suatu tanaman atau akan terjadi keragaman polimorfisme dari setiap enzim yang diuji (Hartana, 2003). Analisis lima isozim terhadap delapan genotipe jarak pagar menghasilkan 11 pita monomorfik dan 11 pita polimorfik. Dengan demikian, ke-22 pita tersebut hanya dapat mengungkap keragaman kedelapan genotipe jarak pagar yang diuji dengan polimorfisme 50% (Tabel 4).

Berdasarkan hasil analisis isozim tersebut dan analisis pengelompokan diperoleh nilai kemiripan yang kemudian disajikan sebagai dendrogram berdasarkan UPGMA (Gambar 8). Nilai koefisien kemiripan



Gambar 5. Variasi (kiri) dan interpretasi (kanan) pola pita isozim ADH pada 8 genotipe jarak pagar. Lobar = Lombok Barat, Lotim = Lombok Timur, Loteng = Lombok Tengah.



Gambar 6. Variasi (kiri) dan interpretasi (kanan) pola pita isozim MDH pada 8 genotipe jarak pagar. Lobar = Lombok Barat, Lotim = Lombok Timur, Loteng = Lombok Tengah.

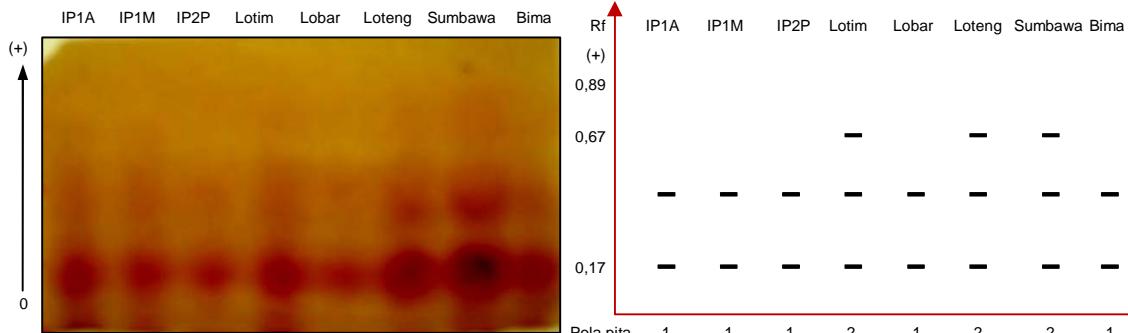
delapan genotipe jarak pagar berkisar antara 0,706-0,977. Nilai koefisien kemiripan tertinggi, yaitu 0,977 diperoleh pada genotipe Lombok Tengah dengan Lombok Timur. Nilai koefisien kemiripan terendah, yaitu 0,706 diperoleh pada genotipe Lombok Timur dengan Lombok Barat.

Gambar 8 menunjukkan bahwa kedelapan genotipe jarak pagar memiliki kemiripan berkisar 75-98% atau terdapat keragaman 2-25%. Genotipe jarak pagar dikelompokkan ke dalam tiga kelompok pada tingkat kemiripan 0,86. Kelompok I terdiri atas genotipe IP-1A, IP-2P, Bima, Lombok Timur, Lombok Tengah, dan Sumbawa. Kelompok II terdiri atas genotipe IP-1M dan kelompok III terdiri atas genotipe Lombok Barat. Ge-

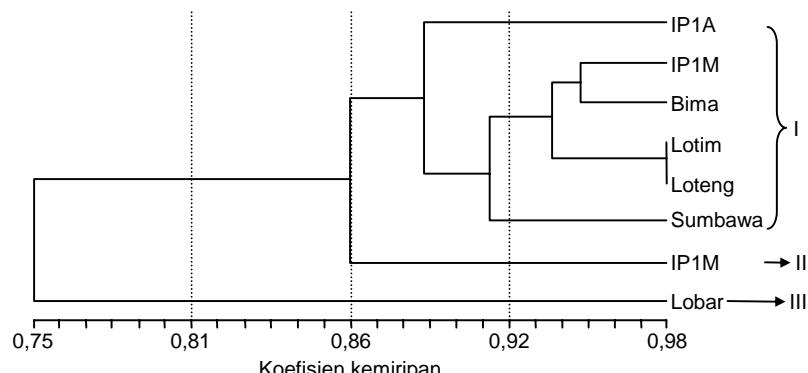
notipe Lombok Timur dan Lombok Tengah memiliki tingkat kemiripan 98%. Hal ini menunjukkan adanya kesamaan genetik di antara keduanya. Nilai korelasi matrik kesamaan *MxComp* sebesar $r = 0,932$, artinya dendrogram yang dihasilkan dengan *goodness of fit* sangat sesuai menggambarkan pengelompokan delapan genotipe jarak pagar tersebut.

Pengelompokan Berdasarkan Gabungan Data Kualitatif, Kuantitatif, dan Isozim

Matrik kemiripan hasil dari analisis gabungan data kualitatif, kuantitatif, dan isozi menunjukkan rentang kemiripan 0,550-0,942. Nilai koefisien kemiripan tertinggi 0,942 diperoleh genotipe Lombok Timur dengan Lombok Tengah dan koefisien kemiripan



Gambar 7. Variasi (kiri) dan interpretasi (kanan) pola pita isozi AAT pada delapan genotipe jarak pagar. Lobar = Lombok Barat, Lotim = Lombok Timur, Loteng = Lombok Tengah.



Gambar 8. Dendrogram delapan genotipe jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) berdasarkan data isozi. Lobar = Lombok Barat, Lotim = Lombok Timur, Loteng = Lombok Tengah.

Tabel 4. Jumlah pita dan tingkat polymorfisme lima isozi pada delapan genotipe jarak pagar.

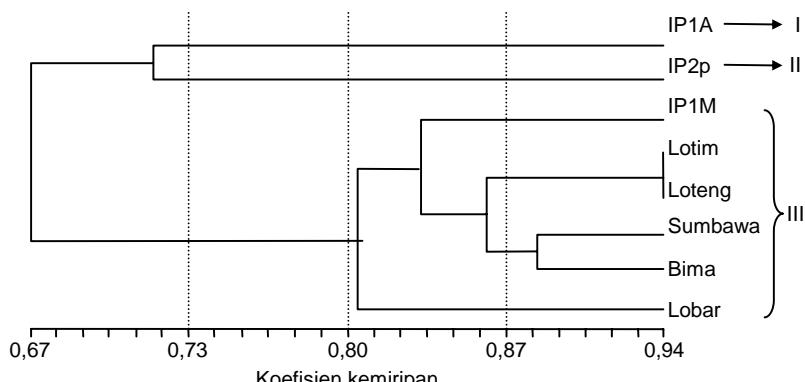
| Isozi | Jumlah pita | Pita polymorfik | Pita monomorfik |
|---------------------------|-------------|-----------------|-----------------|
| Peroksidase | 7 | 5 (71,43%) | 2 |
| Esterase | 6 | 2 (33,33%) | 4 |
| Alkohol dehidrogenase | 3 | 2 (66,67%) | 1 |
| Malat dehidrogenase | 3 | 1 (33,33%) | 2 |
| Aspartat aminotransferase | 3 | 1 (33,33%) | 2 |
| | 22 | 11 (50,00%) | 11 |

terendah 0,550 pada genotipe IP-2P dengan Lombok Barat. Analisis gabungan data kualitatif, kuantitatif, dan isozim kedelapan genotipe jarak pagar yang ditunjukkan pada dendrogram memiliki rentang kemiripan 67-94% atau terdapat keragaman 6-33% (Gambar 9).

Kedelapan genotipe mengelompok menjadi tiga kelompok pada tingkat keragaman genetik 27% (tingkat kemiripan 73%). Kelompok I terdiri atas genotipe IP-1A. Kelompok II terdiri atas genotipe IP-2P dan kelompok III terdiri atas genotipe IP-1M, Lombok Timur, Lombok Tengah, Sumbawa, Bima, dan Lombok Barat. Nilai korelasi matrik kesamaan *MxComp* dari analisis gabungan data kualitatif, kuantitatif, dan isozim sebesar $r = 0,929$, artinya dendrogram yang dihasilkan dengan *goodness of fit* sangat sesuai menggambarkan pengelompokan delapan genotipe jarak pagar tersebut.

Pengelompokan delapan genotipe jarak pagar yang diperoleh dari hasil analisis data karakter kualitatif, kuantitatif, isozim, dan gabungan ketiganya menunjukkan perbedaan yang ditunjukkan oleh dendrogram yang dihasilkan (Gambar 1, 2, 8, dan 9). Berdasarkan analisis karakter kualitatif dan karakter kuantitatif (Gambar 1 dan 2) genotipe IP-2P memiliki hubungan kekerabatan paling jauh dengan ketujuh genotipe lain yang ditunjukkan dengan koefisien matrik kemiripan yang rendah dari ketujuh genotipe yang lain. Menurut Hamzah (2005) kekerabatan yang lebih dekat ditunjukkan oleh nilai jarak genetik yang lebih kecil (koefisien matrik yang besar). Jadi semakin tinggi jarak genetik, semakin rendahnya tingkat kesamaan genetik antar aksesi. Jarak genetik 0 atau nilai kesamaan genetik 1, menunjukkan adanya kesamaan genetik yang mutlak antar aksesi tersebut (Hartatik, 2000). Hal ini dimungkinkan karena perbedaan kondisi lingkungan asal populasi induk, di mana IP-2P diseleksi dari populasi Lampung yang beriklim basah dengan letak geografis yang terpisah dari daerah asal genotipe lain.

Kelima genotipe lain yang berasal dari Nusa Tenggara Barat yang beriklim kering (IP-1M, Lombok Timur, Lombok Barat, Lombok Tengah, Sumbawa, dan Bima) memiliki letak geografis yang relatif berdekatan sehingga terletak dalam satu kelompok. Karena letaknya yang berdekatan menurut Hamzah (2005), kondisi mikro lingkungan tempat tumbuh relatif seragam dan kondisi lingkungan yang relatif seragam membuat kecepatan evolusi antar populasi yang berdekatan tersebut relatif sama sehingga walaupun telah terjadi evolusi yang lama, genotipe yang berdekatan tersebut tidak terlalu jauh berbeda. Hasnam (2006) menyatakan bahwa perbedaan wilayah dengan agroklimat tertentu ketika melakukan seleksi dapat menghasilkan genotipe jarak pagar sesuai ekotipe tersebut. Hal ini tampak dalam pengelompokan berdasarkan karakter kuantitatif yang memberikan kisaran tingkat keragaman genetik delapan jarak pagar relatif cukup tinggi (17-81%), sedangkan dari analisis data kualitatif (0-14%) dan isozim (2-25%) memberikan keragaman yang rendah. Karakter kuantitatif yang dianalisis adalah karakter yang memberikan perbedaan yang nyata, yaitu lebih didominasi oleh karakter komponen hasil seperti jumlah malai per tanaman, umur panen, jumlah buah per tanaman, panjang biji, jumlah biji per tanaman, bobot 100 biji, bobot kering biji per tanaman, bobot kering biji per petak, bobot kering biji per hektar, dan kadar minyak biji (Tabel 3). Hal ini menunjukkan bahwa pada analisis berdasarkan karakter kuantitatif terdapat peranan lingkungan yang lebih besar dibandingkan dengan faktor genetik. Hal serupa diperoleh oleh Rafii *et al.* (2012). Dengan demikian, sempitnya keragaman genetik yang diperoleh kemungkinan disebabkan oleh karena materi yang diuji, kecuali genotipe IP-2P, berasal dari wilayah yang sama, yaitu Nusa Tenggara Barat. Genotipe Lombok Timur dan Lombok Tengah sangat mirip berdasarkan karakter kualitatif, kuantitatif, dan isozim maupun gabungan



Gambar 9. Dendrogram delapan genotipe jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) berdasarkan gabungan data kualitatif, kuantitatif dan isozim. Lobar = Lombok Barat, Lotim = Lombok Timur, Loteng = Lombok Tengah.

ketiganya yang ditunjukkan oleh nilai koefisien kemiripan yang tertinggi atau hampir mendekati 1. Jadi membuat *improved population* dengan menyeleksi populasi jarak dari ekotipe yang sama berdasarkan karakter agronomi seperti komponen hasil, hasil, dan kandungan minyak sangat sesuai untuk program perbaikan jarak pagar di Indonesia yang keragaman genetiknya rendah.

Satyawan dan Tasma (2011) yang mempelajari keragaman genetik dari 50 aksesi jarak pagar dan satu aksesi *Jatropha integerrima* koleksi Puslitbang Perkebunan menggunakan 14 primer RAPD juga mendapatkan keragaman genetik yang rendah antar aksesi. Zhang *et al.* (2011) yang mempelajari keragaman genetik jarak antara Cina dan Asia Tenggara melalui AFLP menyimpulkan bahwa keragaman genetik jarak pagar yang sempit di wilayah Asia disebabkan introduksi tanaman ini ke Asia oleh Portugis, walaupun telah berlangsung 5 abad yang lalu, namun waktu tersebut dinilai belum cukup panjang untuk menimbulkan keragaman genetik baru, apalagi untuk pengembangannya juga lebih banyak dilakukan perbanyak secara vegetatif untuk mendapatkan tanaman jarak *true-to-type*.

KESIMPULAN

Keragaman genetik yang relatif tinggi hanya diperoleh dari analisis terhadap karakter kuantitatif terpilih (17-81%), sedangkan dari karakter kualitatif, isozim, dan kombinasi ketiga karakter sangat rendah (0-33%). Berdasarkan analisis karakter kuantitatif kedelapan genotipe jarak pagar pada koefisien kemiripan 46% dapat dikelompokkan menjadi tiga kelompok. Genotipe yang diseleksi dari *improved population*, yaitu IP-1A dan IP-1M asal populasi NTB, serta IP-2P asal populasi Lampung terbagi ke dalam kelompok berbeda, sementara genotipe lainnya asal NTB terdapat pada satu kelompok. Selain meneruskan pembentukan *improved population*, dianjurkan segera melakukan introduksi, mutasi dan persilangan untuk meningkatkan keragaman genetik koleksi jarak pagar bagi keperluan pemuliaan di masa mendatang.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Kementerian Pendidikan Nasional atas Dana Hibah Penelitian Strategis Nasional (STRANAS) kepada Prof. Dr. Bambang S. Purwoko, MSc.

DAFTAR PUSTAKA

- Achten, W.M.J., L. Verchot, Y.J. Franken, E. Mathijs, V.P. Singh, R. Aerts, and B. Muys. 2008. *Jatropha* bio-diesel production and use. *Biomass and Bioenergy* 32:1063-1084.
- Bustamam, M. dan S. Moeljopawiro. 1998. Pemanfaatan teknologi sidik jari DNA di bidang pertanian. *Zuriat* 2(9):77-90.
- Griffin, J.D. and R.G. Palmer. 1995. Variability of thirteen isozyme loci in the USDA soybean germplasm collections. *Crop Sci.* 35:897-904.
- Hamzah. 2005. Studi keragaman genetik dan pendugaan derajat perkawinan silang berdasarkan analisis isozim serta pengujian provenansi jenis bakau (*Rhizophora mucronata* Lamk.). Disertasi S3. Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Hartana, A. 2003. Pelatihan Singkat Teknik Analisis dengan Metode dan Peralatan Mutakhir di Bidang Hayati dan Kimia. Pusat Studi Ilmu Hayati-Lembaga Penelitian IPB. Bogor. 76 hlm.
- Hartatik, S. 2000. Studi genetik plasma nutfah tebu (*Saccharum* spp.) berdasarkan penanda morfologi, agronomi, dan isozim. Disertasi S3. Program Pasca-sarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Hartati, R.S. 2008. Variasi tanaman jarak pagar dari satu sumber benih satu genotipe. *Info-Tek Jarak Pagar (Jatropha curcas L.)*. 3(1):1.
- Hasnam. 2006. Variasi *Jatropha curcas* L. *Info Tek. jarak pagar (Jatropha curcas L.)*. 1 hlm.
- Hasnam. 2007. Status perbaikan dan penyediaan bahan tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas* L.). hlm. 7-16. Prosiding Lokakarya II Status Teknologi Budidaya Tanaman Jarak Pagar, *Jatropha curcas* L. Bogor, 29 Nopember 2006.
- Hasnam dan Z. Mahmud. 2006. Pedoman Umum Perbenihan Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.). Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Departemen Pertanian.
- Heller, J. 1996. Physic nut. *Jatropha curcas L.* Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crop 1. International Plant Genetic Resources Institute. Rome. 66 p.
- Kaushik, N., K. Kumar, S. Kumar, and S. Roy. 2007. Genetic variability and divergence studies in seed traits and oil content of *Jatropha* (*Jatropha curcas* L.) accessions. *Biomass and Bioenergy* 31:497-502.
- Kumar, A. and S. Sharma. 2008. An evaluation of multipurpose oil seed crop for industrial uses (*Jatropha curcas* L.): A review. *Ind. Crops Prod.* 28:1-10.
- Lapanjang, I., B.S. Purwoko, Hariyadi, S.W. Budi, dan M. Melati. 2008. Evaluasi beberapa ekotipe jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) untuk toleransi cekaman kekeringan. *Bul. Agron.* 36(3):263-269.

- Mahmud, Z., D. Allorerung, dan A.A. Rivaie. 2008. Teknik budidaya jarak pagar (*Jatropha curcas* L.). Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan, Bogor. 18 hlm.
- Mandal, R. 2005. Energy-Alternate Solutions for India's Needs: Bio-diesel. www.jatropha.de/schmook.htm. [14 Januari 2009].
- Mansyah, E., M.J. Anwarudinsyah, L. Sadwiyanti, dan A. Susiloadi. 1999. Variabilitas genetik tanaman manggis melalui analisis isozim dan kaitannya dengan variabilitas fenotipik. *Zuriat* 1(10):1-9.
- Micales, J.A. dan M.R. Bonde. 1995. Isozymes: Methods and applications. p. 115-130. In Singh, R.P. and U.S. Singh (eds.) *Molecular Methods in Plant Pathology*. CRC Press-Lewis Publishers. Boca Raton.
- Mulyani, A., F. Agus, dan D. Allelorung. 2006. Potensi sumberdaya lahan untuk pengembangan jarak pagar (*Jatropha curcas*) di Indonesia. *J. Litbang Pertanian*. 25(4):130-138.
- Parwata, I.G.M.A., D. Indradewa, P. Yudono, dan B.D. Kertonegoro. 2010. Pengelompokan genotipe jarak pagar berdasarkan ketahanannya terhadap kekeringan pada fase pembibitan di lahan pasir pantai. *J. Agron. Indonesia* 38(2):156-162.
- Rafii, M.Y., I.W. Arolu, M.H.A. Omar, and M.A. Latif. 2012. Genetic variation and heritability estimation in *Jatropha curcas* L. population for seed yield and vegetative traits. *J. Medicinal Plants Res.* 6(11):2178-2183.
- Rohlf, F.J. 1998. NTSYSpc Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System Version 2.02. Applied Biostatistics Inc.
- Santoso, B.B. 2009. Karakterisasi morfo-ekotipe dan kajian beberapa aspek agronomi jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) di Nusa Tenggara Barat. Disertasi. Program Pasca Sarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Santoso, B.B. 2011. Variation in oil contents, and seed and seedling characteristics of *Jatropha curcas* of West Nusa Tenggara selected genotypes and their first improved population. *Bioscience* 3(3):130-135.
- Santoso, B.B., Hasnam, Hariyadi, S. Susanto, dan B.S. Purwoko. 2008. Potensi hasil jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) pada tahun pertama budidaya di lahan kering Lombok Barat, Nusa Tenggara Barat. *Bul. Agron* (36)2:160-166.
- Sastrosumarno, S., Yudiwati, S.I. Aisyah, S. Sujiprihati, M. Syukur, dan R. Yunianti. 2006. Sitogenetika Tanaman. Departemen Agronomi dan Hortikultura. Institut Pertanian Bogor. 268 hlm.
- Satyawan, D. and I.M. Tasma. 2011. Genetic diversity analysis of *Jatropha curcas* provenances using Randomly Amplified Polymorphic DNA markers. *J. AgroBiogen* 7(1):44-55.
- Shukla, N., N.S. Sangwan, O.H. Misra, and R.S. Sangwan. 2004. Characterization of *Boerhavia diffusa* L. mutant lines by RAPD and isozyme selected for agronomically valuable traits. *J. Gen. Breed.* 58:37-46.
- Sudarmo, H., B. Heliyanto, Suwarso, dan Sudarmadji. 2007. Akses potensial jarak pagar (*Jatropha curcas* L.). hlm. 111-114. Prosiding Lokakarya II: Status teknologi tanaman jarak pagar *Jatropha curcas* L. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan.
- Sujatha, M., T.P. Reddy, and M.J. Mahasi. 2008. Role of biotechnological interventions in the improvement of castor (*Ricinus communis* L.) and *Jatropha curcas* L. *Biotechnol. Adv.* 26:424-435.
- Wendel, J.F. and N.F. Weeden. 1989. Visualization of plant isozymes. p. 5-45. In D.E. Soltis and P.S. Soltis (eds.) *Isozymes in Plant Biology*. Dioscorides Press. Portland, Oregon.
- Zhang, Z., X. Guo, B. Liu, L. Tang, and F. Chen. 2011. Genetic variation and genetic relationship of *Jatropha curcas* between China and Southeast Asian revealed by amplified fragment length polymorphisms. *Afr. J. Biotechnol.* 10(15):2825-2832.