

EKSTRAKSI DNA DAUN DAN BIJI JARAK PAGAR (*Jatropha curcas L.*) DENGAN METODE DOYLE DAN DOYLE (1990)

Ni Wayan Deswiniyanti¹, Ida Ayu Astarini²

^{1,2}Universitas Dhyana Pura, Bali, Indonesia

Email: deswiniyanti@undhirabali.ac.id

ABSTRAK

Jarak pagar (*Jatropha curcas L.*) merupakan salah satu tanaman sebagai sumber biodiesel yang memiliki beragam aksesori. Cara untuk membedakan masing – masing aksesori dapat dilihat berdasarkan dari ciri morfologinya atau berdasarkan marka DNA. DNA dapat diekstraksi dari seluruh bagian tanaman. Pada penelitian ini DNA diekstrak dari sampel daun dan biji jarak pagar dengan menggunakan metode Doyle dan Doyle (1990). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui metode dan hasil ekstraksi DNA dari berbagai jenis sampel dari bagian tanaman jarak pagar antara lain biji (J1), daun segar (J2), daun yang telah disimpan dalam lemari es suhu 4^o C (J3), daun muda (J4) dan daun tua (J5) yang telah dibekukan pada suhu -80^o C selama 1 minggu. Ekstraksi DNA menggunakan buffer ekstraksi dengan komposisi 2% CTAB (Cetyltrimethyl Ammonium Bromide), 100 mM Tris/HCl, pH 8, 1.4 M NaCl, 20 mM EDTA, pH 8.0, 1% polyvinylpyrrolidone (PVP)-40, 2% mercaptoethanol dan elektroforesis menggunakan gel agarosa 0,8% dalam larutan TAE 0,5X. Hasil ekstraksi pada semua sampel J1, J2, J3, J4 dan J5 dapat menunjukkan pita DNA sehingga sampel untuk ekstraksi DNA dapat menggunakan salah satu jenis bahan ekstrak dari berbagai sampel biji dan daun dengan atau tanpa perlakuan penyimpanan untuk penelitian marka DNA aksesori tanaman jarak pagar.

Kata kunci: Ekstraksi, DNA, Doyle dan Doyle (1990), Jarak pagar, Biodiesel.

ABSTRACT

*Jarak Pagar (*Jatropha curcas L.*) is one of the plants as a source of biodiesel that has various accessions. The ways to distinguish each accession can be seen based on morphological characteristics or based on DNA markers. DNA can be extracted from all parts of the plant. In this study DNA was extracted from *Jatropha curcas L.* leaves and seeds samples using the Doyle and Doyle (1990) method. The aims of this study is to determine the methods and results of DNA extraction from various types of samples from *J. curcas L.* plant parts including seeds (J1), fresh leaves (J2), leaves that have been stored in a refrigerator at a temperature of 4^o C (J3), young leaves (J4) and old leaves (J5) which have been frozen at -80^o C for 1 week. DNA extraction using an extraction buffer with a composition of 2% CTAB (Cetyltrimethyl Ammonium Bromide), 100 mM Tris / HCl, pH 8, 1.4 M NaCl, 20 mM EDTA, pH 8.0, 1% polyvinylpyrrolidone (PVP) -40, 2% mercaptoethanol and electrophoresis using 0.8% agarose gel in 0.5X TAE solution. Extraction results on all samples J1, J2, J3, J4 and J5 can show DNA bands so that samples for DNA extraction can use one type of extract material from various seed and leaf samples with or without storage treatment for research on *Jatropha* plant accession DNA markers.*

Keywords: Extraction, DNA, Doyle and Doyle (1990), *Jatropha curcas L.*, Biodiesel.

1. Pendahuluan

Kondisi krisis energi saat ini yang disertai melambungnya harga minyak dunia dan keterbatasan cadangan minyak yang siap dieksplorasi membuat pemerintah mencari sumber alternatif bahan bakar minyak baru selain bahan bakar dari fosil. Alternatif lain bahan bakar minyak tersebut adalah bahan bakar minyak nabati (*Biofuel*). Ketersediaan energi fosil yang semakin langka menyebabkan prioritas mengarah kepada penggunaan energi asal tanaman atau bahan bakar nabati (Purlani, 2007).

Bahan bakar nabati (BBN) yang berasal dari tanaman penghasil lemak, misalnya kelapa, kelapa sawit, jarak pagar, bunga matahari dan lainnya. Bahan bakar nabati (BBN) adalah semua bahan berasal dari minyak nabati. Oleh karena itu BBN dapat berupa biodiesel, bioetanol, bio-oil atau minyak nabati murni. Biodiesel dapat menggantikan solar, bioetanol dapat menggantikan premium, sedangkan bio-oil dapat menggantikan minyak tanah. Biodiesel merupakan bentuk ester dari minyak nabati setelah adanya perubahan sifat kimia karena proses transesterifikasi yang memerlukan tambahan methanol. Salah satu sumber biodiesel yang sedang diperbaharui oleh pemerintah Indonesia saat ini adalah bahan bakar nabati dari tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas* L.). Biji jarak pagar mengandung 30% minyak yang dapat diproses sebagai biodiesel (Prastowo, 2007).

Jarak pagar umumnya dikenal oleh masyarakat sebagai tanaman obat, walaupun di zaman penjajahan Jepang pernah dikembangkan untuk bahan bakar pesawat terbang dan minyak lampu. Dari segi lingkungan tumbuh, tanaman jarak pagar dapat dikatakan termasuk tanaman kosmopolitan. Artinya, tanaman yang dapat tumbuh pada berbagai ekosistem, dari daerah yang sangat kering dengan curah hujan hanya sekitar 300 – 500 mm/tahun sampai daerah yang sangat basah dengan curah hujan 4.000 – 6.000 mm/tahun. Tanaman ini dapat tumbuh di daerah dataran rendah bahkan pinggir pantai sampai ketinggian di atas 1.000 m dpl (Syah, 2006).

Selain dilihat dari segi morfologi dan perkembangan tumbuhan baik daun, bunga dan biji jarak pagar, dapat pula dilihat unsur genetik DNA secara molekuler yang dapat mendukung penelitian tanaman jarak pagar yang dijadikan sebagai sumber bahan bakar nabati ini. DNA dapat diperoleh dengan mengekstraksi salah satu bagian tanaman, baik dari daun, biji, maupun akar tanaman. Para peneliti terus mengembangkan dan memodifikasi metode maupun teknik dalam ekstraksi DNA pada daun maupun biji jarak pagar agar mendapatkan pita – pita DNA sehingga dalam pemuliaan tanaman dapat diperoleh varietas jarak pagar yang unggul. Oleh karena itu diperlukan adanya penelitian dalam membandingkan hasil ekstraksi DNA dari daun jarak pagar yang masih segar, daun jarak pagar yang telah beku atau disimpan dalam suhu rendah, dan ekstraksi DNA dari biji jarak pagar.

2. Metode

Teknik Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan pada bulan Januari di Jalan Pulau Solor dan Jalan Tukad Citarum Denpasar. Sampel daun dan biji Jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) diambil dengan tangan, dipilih pucuk – pucuk daun muda yang masih berwarna kemerahan, daun tua dan biji yang segar dan sehat. Sampel dibersihkan kemudian dimasukkan ke dalam kantong plastik dan di beri label daun muda pada 4⁰ C, daun muda dan daun tua pada -80⁰ C, sedangkan untuk daun muda segar dan biji jarak dipetik langsung sebelum percobaan dilakukan.

Daun muda dengan perlakuan suhu 4⁰ C disimpan di dalam lemari es atau kulkas selama 6 hari. Daun muda dan daun tua dengan perlakuan suhu -80⁰ C

disimpan di dalam *freezer* selama 4 hari. Pada saat percobaan masing – masing daun diambil secukupnya kemudian ditimbang dan di gerus hingga halus.

Ekstraksi DNA Daun dan Biji Jarak Pagar

Ekstraksi DNA dilakukan berdasarkan metode Doyle dan Doyle (1990). DNA diekstrak dari sampel daun muda segar, biji, daun muda yang disimpan pada suhu 4⁰ C, daun muda dan daun tua yang disimpan pada suhu -80⁰ C . Sebanyak 0,1 gram sampel ditimbang dan digerus dengan menggunakan *mortar dan pestle*, ditambah dengan 1,5 ml buffer ekstraksi (2% CTAB, 100 mM Tris, pH 8, 1.4 M NaCl, 20 mM EDTA, pH 8.0, 1% polyvinylpyrrolidone (PVP)-40, 2% mercaptoethanol) dan dimasukkan ke dalam tabung eppendorf. Suspensi ini diinkubasi pada suhu 65⁰ C selama 40 menit dalam penangas air (*water bath*). Selama inkubasi tabung eppendorf di bolak – balik secara kontinyu kemudian disentrifuse pada 14.000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang dihasilkan dipindahkan ke tabung eppendorf baru dan ditambahkan campuran kloroform : isoamilalkohol (24:1) dengan volume yang sama sesuai dengan volume supernatan. Tabung eppendorf divortex hingga homogen dan disentrifuse pada 14.000 rpm selama 10 menit. Diambil lapisan bagian atas (supernatan) kemudian dipindah ke tabung eppendorf baru dan ditambahkan isopropanol dingin (-20⁰ C). Campuran ini diinkubasi pada -20⁰C selama 1 jam. Kemudian tabung disentrifuse (*Tomy High Speed Micro Centrifuse*) pada kecepatan putar 14.000 rpm selama 4 menit dan supernatan dibuang. Pelet DNA yang terbentuk di dasar tabung eppendorf dicuci dengan etanol 70% lalu disentrifuse pada 14.000 rpm selama 3 menit. Cairan pencuci etanol 70% dibuang dan pelet DNA yang dihasilkan dikeringanginkan kemudian pelet DNA ditambahkan 100 µl air steril dan disimpan pada suhu -20⁰ C.

Elektroforesis DNA

Elektroforesis DNA daun dan biji jarak pagar menggunakan gel agarosa. Gel dibuat dari agarosa 0,4% dan buffer yang digunakan adalah buffer TAE (40 mM Tris-asetat pH 7,9 dan 2 mM Na₂EDTA). Agarosa ditimbang sebanyak 0,2 gram, ditambahkan 50 ml 1 x TAE dimasukkan ke dalam gelas beker kemudian dipanaskan pada *microwave (National)* selama 1 menit. Disiapkan cetakan gel dan sisir pembuat sumur gel. Cairan gel dituang ke dalam cetakan, kemudian di tunggu hingga gel mengental. Setelah gel mengental sisir di cabut sehingga terbentuk sumur – sumur gel. Gel dimasukkan ke dalam bak elektroforesis (*GelMate 2000*) yang telah diisi buffer TAE. Masing – masing 5 µl sampel di campur dengan 1 µl loading dye diatas kertas parafilm. Campuran masing – masing sample dimasukkan ke dalam sumur gel, kemudian dialiri listrik pada tegangan 100 volt selama 30 menit. Pewarnaan dilakukan dengan cara gel direndam dalam *Ethium Bromida* (0,5 µ gr/ml) selama kurang lebih 30 menit. Pengamatan atau visualisasi DNA dilakukan diatas uv transiluminator dan dilakukan dokumentasi dengan kamera digital. Data yang diperoleh dari hasil penelitian ini disajikan dalam bentuk tabel dan gambar kemudian data dianalisis secara deskriptif.

3. Hasil dan Pembahasan

Hasil

Hasil ekstraksi DNA genomik pada daun dan biji jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) yang dilakukan dengan 3 kali pengulangan dengan metode Doyle dan Doyle (1990) terlihat adanya pelet DNA. Pelet yang didapatkan pada semua sampel daun dan biji jarak pagar tersebut menempel pada dasar tabung eppendorf berbentuk gel dan berwarna bening agak putih. Setelah diperoleh pelet DNA kemudian diinkubasi pada suhu -20⁰ C dan dilakukan elektroforesis, maka tampak pita-pita DNA yang dapat dilihat pada Tabel 2. Hasil elektroforesis DNA dengan gel

agarosa dapat dilihat pada gambar 2, gambar 3 dan gambar 4. Hasil elektroforesis menunjukkan adanya pita DNA pada bagian atas gel yang menandakan DNA yang diisolasi berukuran besar yang merupakan DNA genomik yang ditunjukkan dengan tanda panah pada gambar. Pada bagian bawah gel terlihat adanya RNA yang ikut terisolasi berupa polesan tipis. Molekul RNA lebih kecil sehingga dapat melewati gel dengan mudah dan lebih cepat dibandingkan molekul DNA. Hal tersebut menyebabkan RNA bermigrasi lebih cepat dan terletak pada bagian bawah gel. RNA merupakan salah satu kontaminan dalam isolasi DNA. RNA dapat dihilangkan dengan penambahan RNA-se (Rogers dan Bendich, 1989).

Tabel 2. Hasil elektroforesis DNA daun dan biji jarak pagar (*Jatropha curcas* L.)

No	Pengulangan	Sampel				
		D1	B	D2	D3	D4
1	I	✓	✓	✓	-	✓
2	II	✓	✓	✓	✓	-
3	III	✓	✓	✓	✓	✓

Keterangan :

D1 = Sampel daun muda segar jarak pagar

D2 = Sampel daun muda jarak pagar 4⁰ C

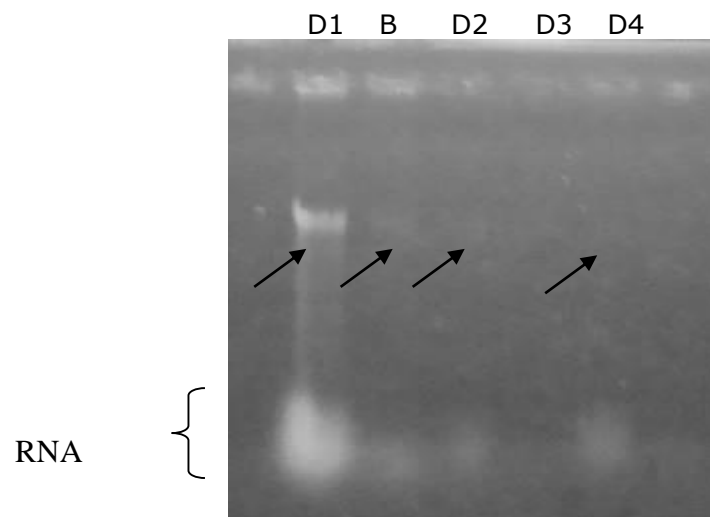
D3 = Sampel daun muda jarak pagar -80⁰ C

D4 = Sampel daun tua jarak pagar -80⁰ C

B = sampel biji jarak

✓ = terlihat adanya pita DNA

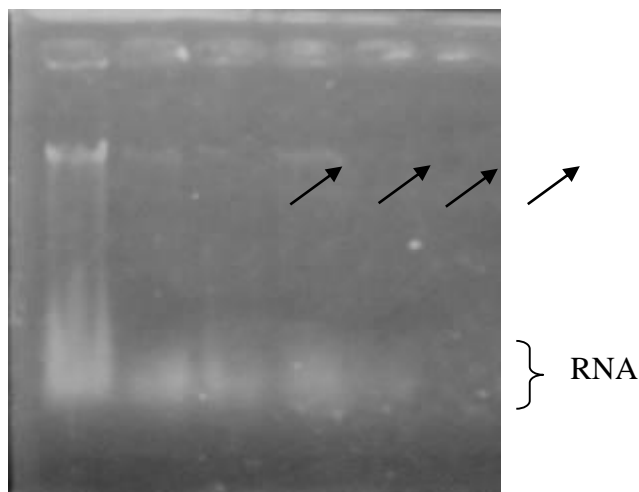
- = tidak terlihat adanya pita DNA



Gambar 2. Hasil elektroforesis DNA daun dan biji jarak pagar pada pengulangan pertama (I).

Foto : Deswiniyanti, 2009

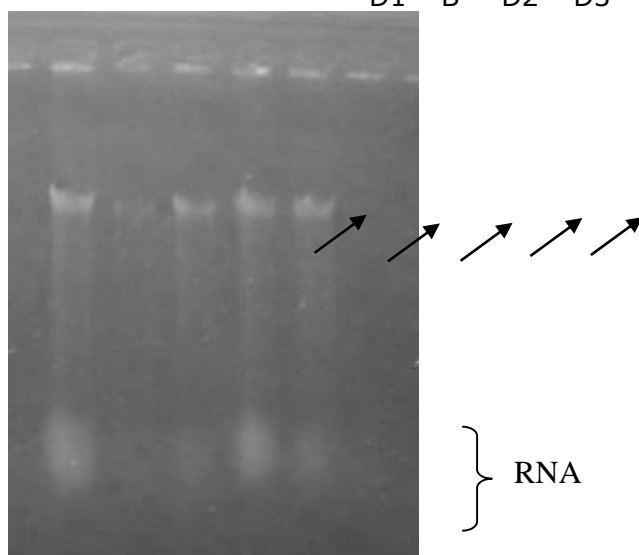
D1 B D2 D3 D4



Gambar 3. Hasil elektroforesis DNA daun dan biji jarak pagar pada pengulangan kedua (II).

Foto : Deswiniyanti, 2009

D1 B D2 D3 D4



Gambar 4. Hasil elektroforesis DNA daun dan biji jarak pagar pada pengulangan ketiga (III).

Foto : Deswiniyanti, 2009

Terlihat pada gambar – gambar tersebut bahwa hasil elektroforesis DNA pada sampel daun ada yang menunjukkan adanya pita DNA dan adapula yang tidak menunjukkan pita DNA, namun pada sampel biji semua hasil elektroforesis DNA pada tiap ulangan menunjukkan adanya pita DNA walau terlihat agak tipis

Pembahasan

Metode yang digunakan untuk mengisolasi DNA dari berbagai jenis tanaman, organ tanaman, maupun jaringannya dapat dilakukan dengan berbagai cara. Namun pada intinya terdapat tiga faktor utama yang sangat penting dalam melakukan purifikasi dan ekstraksi DNA secara maksimal. Pertama adalah cara menghancurkan jaringan tanaman khususnya adalah dinding selnya dengan cara penggerusan. Kedua adalah komposisi dari larutan buffer yang ditambahkan pada hasil penggerusan jaringan tanaman dan yang ketiga adalah penghilangan enzim penghambat-polisakarida (Nugroho dkk., 2016). DNA daun dan biji jarak pagar dapat diekstraksi dengan menggunakan metode ekstraksi menurut Doyle dan Doyle

(1990) dan buffer yang digunakan adalah CTAB (*Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide*). DNA daun jarak pagar yang diperoleh setelah elektroforesis hasilnya beragam pada tiap pengulangan sedangkan DNA biji jarak pagar yang diperoleh pada tiap ulangan hasilnya konsisten yaitu terlihat adanya pita DNA yang agak tipis.

Pita DNA dari daun ada yang terlihat jelas bahkan ada yang masih agak *smear* atau berupa polesan tipis hal ini mungkin disebabkan kurang terampilnya peneliti dalam menghomogenkan loading dye dengan sampel DNA sehingga berkurangnya volume DNA yang masuk ke dalam sumur gel. Hasil DNA yang agak *smear* dapat juga disebabkan oleh kontaminasi dari getah yang terkandung di dalam daun jarak pagar tersebut yang mengandung polifenol (metabolit sekunder) dan polisakarida sebagai kontaminan. Polifenol dapat menyebabkan enzim endonuklease menjadi aktif dan menghambat perolehan DNA genomik yang utuh melainkan DNA menjadi terfragmentasi atau terpotong – potong. Sedangkan pada biji tidak mengandung getah atau polifenol sehingga pita DNA masih dapat terlihat terlihat (Susantidiana, 2009). Penambahan senyawa pereduksi seperti β -mercaptoethanol mencegah oksidasi senyawa fenolik sehingga menghambat aktifitas radikal bebas yang dihasilkan oleh oksidasi fenol terhadap asam nukleat (Prana dan Hartati, 2003).

Penambahan buffer CTAB sebagai deterjen berfungsi untuk memecah atau melisiskan membran sel karena deterjen melarutkan lipid pada membran sel dan selubung nukleus sehingga DNA dapat keluar dan larut dalam air (Ardiana, 2009). Daun jarak pagar yang telah dihaluskan pada awal proses ekstraksi DNA akan terbentuk larutan kental setelah ditambahkan bufer pengekstrak CTAB, yang menunjukkan tingginya kandungan polisakarida (Prana dan Hartati, 2003). Oleh karena itu daun yang memiliki ciri khas bergetah ini dalam pengerjaan ekstraksi DNA terlebih dahulu kadar getahnya harus dikurangi. Menurut Sisharmini dkk (2002) untuk mendapatkan DNA pada daun yang bergetah dapat dilakukan dengan menggunakan metode CTAB yang dimodifikasi dari Porebski *et al.* (1997) dan Varadarajan dan Prakash (1991). Daun bergetah yang akan diekstraksi diinkubasi pada tempat gelap selama 12 – 48 jam.

Teknik yang kedua yaitu dengan metode CTAB dari Tanaka dan Nakatani (2001), daun yang bergetah tersebut sebelum diekstraksi dikeringkan terlebih dahulu dalam oven suhu 50^o C selama semalam. Kedua perlakuan tersebut bertujuan untuk mengurangi kadar getah (polifenol) di dalam jaringan daun dan membuat jaringan daun menjadi kering sehingga memudahkan ketika dilakukan penggerusan untuk memperoleh hasil gerusan yang lembut. Selain itu, pada metode CTAB dari Tanaka dan Nakatani menggunakan penambahan 2 kali larutan CTAB dengan konsentrasi yang berbeda. Penambahan CTAB konsentrasi tinggi (CTAB 10%) bertujuan untuk melarutkan atau mengeluarkan DNA dari inti sel sedangkan penambahan CTAB konsentrasi rendah (CTAB 1%) bertujuan untuk mempresipitasi DNA secara selektif.

Setelah terjadinya pelisisan sel dan DNA keluar dari dinding sel, kemudian diekstraksi dalam larutan kloroform : isoamilalkohol (24:1) sebagai larutan organik yang membantu menghilangkan lipid dan mendenaturasi protein, sedangkan DNA atau RNA tidak dapat terdenaturasi karena molekul ini tidak larut didalam pelarut organik. Proses presipitasi dilakukan dengan penambahan isopropanol dingin yang berfungsi untuk menetralkan sebab isopropanol tidak memiliki muatan, sedangkan DNA bermuatan negatif (-), memvisualisasikan DNA dan mengendapkan DNA. Kemudian dilakukan pencucian dengan etanol untuk menghilangkan garam – garam yang masih menempel pada pelet DNA

DNA dapat diperoleh dengan menggunakan metode CTAB Doyle dan Doyle (1990) dari bahan dasar daun maupun biji jarak pagar, walaupun tebal tipisnya pita DNA yang diperoleh tidak seragam. DNA daun hasil elektroforesis pada perlakuan suhu 4^o C dan -80^o C pada ulangan ketiga tampak jelas dan terdapat banyak DNA

(Gambar 4), begitu pula pada sampel daun segar terlihat pita DNA pada ulangan ketiga (Gambar 4). Pada ulangan pertama dan kedua terlihat adanya pita DNA namun masih terlihat usapan atau polesan (*smear*) (Gambar 2 dan 3). Hal ini berarti ada sebagian DNA yang diperoleh sudah tidak utuh lagi, dan mungkin terpotong-potong saat proses ekstraksi berlangsung. Ketidakberhasilan dalam percobaan menurut Suprpto (2009) juga diduga oleh adanya beberapa faktor antara lain kurangnya volume DNA pada saat elektroforesis dan adanya kontaminan.

Hasil ekstraksi DNA pada daun segar pada tiap ulangan lebih jelas daripada daun yang disimpan pada suhu rendah, karena DNA pada daun segar masih murni. Hasil ekstraksi DNA pada daun muda 4⁰ C, daun muda -80⁰ C dan daun tua -80⁰ C antara ulangan pertama dan kedua tidak berbeda karena pita DNA yang terlihat pada semua sampel daun hanya sedikit dan agak tipis, namun pada ulangan ketiga semua sampel daun terlihat pita DNA yang cukup banyak dan tebal. Ekstraksi DNA pada ulangan ketiga terdapat modifikasi cara penyimpanan sampel daun yang disimpan di suhu rendah. Daun tersebut disimpan langsung dengan mortar dan pestle dalam *freezer* sehingga saat sampel dikeluarkan dari *freezer* masih dalam keadaan beku dan memudahkan dalam penggerusan. Digunakannya dua parameter pada daun yang diberi perlakuan suhu -80⁰ C karena biasanya para peneliti menggunakan daun yang dibekukan atau daun kering (*frozen or dried leaf*). *Frozen leaf* atau daun yang dibekukan biasanya disimpan di dalam *freezer* (-80⁰ C) sedangkan daun kering (*dried leaf*) berupa herbarium (Sanchez *et al.*, 2006).

Mengisolasi DNA dengan kualitas tinggi dari berbagai jenis sample memiliki tantangan tersendiri, dan metode yang ideal akan beragam bergantung pada jenis jaringan/tissue, bagaimana ia diperoleh dari sumbernya, dan bagaimana sampel ditangani atau disimpan sebelum diekstrak. Penggunaan sampel daun yang diberi perlakuan suhu kurang efektif karena daun yang disimpan pada 4⁰ C dilakukan pengambilan dengan kotak es atau *ice box* dan es batu sehingga suhunya kurang terjaga.

Metode untuk isolasi asam nukleat sering dikerjakan menggunakan penghancuran mekanik atau metode kimiawi, yang kadang-kadang juga terotomatisasi. Baik metode ekstraksi manual maupun otomatis yang digunakan, kita harus berhati-hati untuk meminimalisir degradasi DNA, dengan menghindari ekspos terhadap panas, cahaya, *freeze-thaw* yang berulang-ulang dan vortex. Begitu pula pada saat percobaan daun yang disimpan pada suhu -80⁰ C agak sulit untuk digerus karena setelah daun dikeluarkan dari *freezer*, daun ditimbang baru digerus sehingga daun sudah tidak dalam keadaan beku. Hal tersebut dapat menyebabkan jumlah sel dalam tiap sampel dapat berbeda meskipun dengan berat yang sama. Jumlah sampel menentukan jumlah DNA yang berada di dalamnya. Untuk mendapatkan sampel yang halus dengan ukuran atau volume yang sama dapat digunakan nitrogen cair dalam proses penghalusan (Sisharmini dkk., 2002).

Ketidakterhasilan dalam ekstraksi dan elektroforesis DNA disebabkan oleh hambatan pengerjaan secara teknis. Hambatan tersebut dapat menyebabkan tiap sampel yang dikerjakan berada dalam kondisi yang tidak sama sehingga dalam pengerjaan ekstraksi yang menggunakan sampel dan metode yang sama dapat menghasilkan hasil yang sedikit berbeda. Proses pengerjaan ekstraksi saat melakukan pipetasi suspensi, dan volume DNA yang masuk ke dalam sumur gel karena kurang berhasil dalam mencampur dengan loading dye sehingga saat memipet lebih banyak loading dye yang masuk ke dalam sumur, dan kurang terampilnya peneliti dalam memasukkan DNA ke dalam sumur sehingga merembes dan larut pada buffer TAE dalam bak elektroforesis merupakan hambatan dalam ekstraksi dan elektroforesis DNA secara teknis. Pita DNA yang tidak terlihat di beberapa sampel pada pengulangan pertama dan kedua disebabkan karena kurangnya volume DNA yang masuk ke dalam sumur gel dan pada ulangan kedua

menggunakan sumur gel ukuran besar sehingga pita DNA terlihat tipis akibat membias dan berpendar.

4. Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan hal – hal sebagai berikut :

1. Pada penelitian ini hasil ekstraksi DNA pada daun dan biji jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) tidak berbeda karena telah terlihat adanya pita DNA pada masing – masing sampel.
2. Hasil ekstraksi pada sampel daun yang diberikan perlakuan suhu, daun segar maupun biji tidak berbeda karena DNA dapat diperoleh dari seluruh bagian tanaman dalam kondisi apapun

Pustaka Acuan

- Ardiana, D.W. 2009. Teknik isolasi DNA genom tanaman pepaya dan jeruk dengan menggunakan modifikasi bufer CTAB. Buletin Teknik Pertanian 14(1): 12-16
- Doyle, J.J. and J.L.Doyle. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus 12:13-15.
- Nugroho, K, Rerenstradika T.T, Habib R, Puji L. 2016. Metode ekstraksi DNA pada *Jatropha* spp tanpa menggunakan nitrogen cair. Jurnal Littri 22 (4) hal 159-166
- Prana, T.k. dan N.S. Hartati. 2003. Identifikasi Sidik Jari Talas (*Colocasia esculenta* L. Schott) Indonesia dengan Teknik RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA): Skринing Primer dan Optimalisasi Kondisi PCR. Jurnal Natur Indonesia 5 (2) : 107-112.
- Purlani, E. 2007. Penggunaan Minyak Jarak Pagar (Bio Fuel) Pada Mobil Dinas Lingkup Badan Litbang Pertanian. Available at : <http://www..deptan.go.id/teknologi/bu/infotek07.htm>.
- Rogers, S.O., Bendich, A.J. 1985. Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissue. Plant Molecular Biology, 5:69-76.
- Sanchez, J.H.C., K.Remarchuk, K. Ubayasena. 2006. Ready to use DNA Extracted with a CTAB Method Adapted for Herbarium Specimens and Mucilaginous Plant tissue. Plant Molecular Reporter 24:161-167.
- Sisharmini, A., A.D. Ambarawati, T.J. Santoso, D.W. Utami, Herman. 2002. Teknik isolasi DNA dan analisis PCR Gen Pin II pada genom Ubi Jalar. Available at : http://biogen.litbang.deptan.go.id/terbitan/prosiding/fulltext_pdf/prosiding2002_atmitri_teknik.pdf.
- Susantidiana, Andi W, Benyamin L, Memen S. 2009. Identifikasi beberapa aksesi jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) melalui analisis RAPD dan morfologi. J. Agron Indonesia 37(2): 167-173
- Suprpto, Hayati. 2009. Pematangan DNA Plasmid dengan enzim restriksi Hinf. Available at: <http://regeni.wordpress.com/bahan-ajar/laporan-praktikum/hayati>
- Syah A N A. 2006. Biodiesel Jarak Pagar: Bahan Bakar Alternatif yang Ramah Lingkungan. Agro Media Pustaka, Jakarta.
- Prastowo, B. 2007. Bahan bakar nabati asal tanaman perkebunan sebagai alternatif pengganti minyak tanah rumah tangga. J. Perspektif Volume 6 No 1 Juni 2007. Hal 10-18
- Yuwono, T. 2008. Bioteknologi Pertanian. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.