

## OPTIMASI METODE ISOLASI DNA PADA *Jatropha spp.*

*Optimization of DNA Isolation Method on Jatropha spp.*

KRISTIANTO NUGROHO, RERENSTRADIKA T. TERRYANA, DAN PUJI LESTARI

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian Jalan  
Tentara Pelajar 3A, Bogor 16111, Telp. (0251) 8337975; Faks. (0251) 8338820;  
Email: nugrohoxkristianto@gmail.com

### ABSTRACT

*Physic nut is one of potential plant which produces biofuel. The presence of biofuel from physic nut is being expected could reduces the using of crude oil. It is important to do an intensive breeding program either convensionally or molecular based to improve new varieties of physic nut. DNA isolation is one of important step in molecular based activity. Physic nut has high latex content which makes isolation process become so difficult. The aim of this study is to find the technique of DNA isolation which can reduces the contaminants. There are two washing techniques that being used in this study, three times and five times washing. There are also two kinds of ascorbic acid which being used in this study, laboratory grade and 500 mg tablet vitamin C. The results showed that isolated DNA has a good of quality and quantity. The banding pattern of amplification clearly visible under UV light. The result showed that washing buffer three times is enough to produce good stock DNA. Besides, 500 mg tablet vitamin C can be used as a substitute for pure ascorbic acid in the process of DNA isolation when the pure ascorbic acid is not available in the laboratory.*

*Keywords: Jatropha spp., optimization, isolation, DNA, ascorbic acid*

### PENDAHULUAN

Jarak pagar merupakan tanaman tahunan anggota famili Euphorbiaceae. Menurut Heller (1996) tanaman ini berasal dari wilayah Meksiko dan Amerika Tengah dan saat ini telah tersebar hingga ke wilayah Asia dan Afrika. Tanaman ini merupakan tanaman multifungsi, karena selain dapat dimanfaatkan sebagai tanaman obat, bijinya juga menghasilkan minyak yang dapat diolah menjadi bahan bakar alternatif dan bahan pembuat sabun, serta bungkil bijinya dapat diolah menjadi biobriket (Erythrina 2007; Hambali, 2007).

Merebaknya isu mengenai kelangkaan minyak dunia membuat nilai ekonomis jarak pagar meningkat belakangan ini. Kehadiran bahan bakar dari minyak jarak diharapkan mampu mengurangi ketergantungan terhadap bahan bakar berbasis minyak bumi yang sifatnya tidak dapat diperbarui. Selain itu, jarak pagar merupakan tanaman yang tidak dapat dimakan (non edible plant) sehingga pemanfaatannya sebagai bahan bakar tidak akan menimbulkan persaingan kebutuhan, seperti pada pembuatan bioetanol dari jagung atau singkong.

Selain jarak pagar (*Jatropha curcas* L.), terdapat anggota genus *Jatropha* lain yang bijinya mampu menghasilkan minyak, namun

umumnya dibudidayakan sebagai tanaman hias. Anggota genus *Jatropha* tersebut antara lain: jarak bali atau bottleshrub plant (*Jatropha podagrica* Hook.), jarak cina atau coral plant (*Jatropha multifida* L.), bellyache bush (*Jatropha gossypifolia* L.), spicy jatropha (*Jatropha integerrima* Jacq.), dan red physic nut (*Baliospermum solanifolium* (Burm.) Suresh. sinonim *Jatropha montana* Willd). Tanaman-tanaman tersebut memiliki keunggulan sifat masing-masing. Jarak bali (*Jatropha podagrica*) memiliki kandungan minyak pada biji lebih dari 50% sehingga cocok untuk dijadikan tanaman donor sifat minyak tinggi, jarak cina (*Jatropha multifida*) memiliki ukuran buah yang besar, spicy jatropha (*Jatropha integerrima*) merupakan tanaman yang berbunga sepanjang tahun, sedangkan bellyache bush (*Jatropha gossypifolia*) memiliki sifat toleran cekaman salinitas dan kekeringan (Ratha dan Paramathma, 2009; Kumar et al., 2009).

Untuk menghasilkan varietas jarak pagar dengan sifat unggul, perlu dilakukan kegiatan pemuliaan secara intensif. Penggunaan teknik molekuler pada kegiatan pemuliaan dapat mempermudah proses introgresi gen-gen tertentu dari satu individu ke individu lain. Pengembangan marka molekuler yang terpaut gen-gen tertentu juga dapat membantu mengurangi ukuran populasi dan

waktu yang dibutuhkan dalam program pemuliaan per siklus seleksi (Syukur et al., 2012).

Isolasi DNA merupakan salah satu tahap penting dalam kegiatan berbasis molekuler. Dibutuhkan DNA dengan kualitas yang baik untuk berbagai kegiatan seperti pemanfaatan marka molekuler, pembuatan pustaka genom, hingga sekuensing. Permasalahan utama yang sering muncul dalam proses isolasi DNA tanaman adalah kehadiran senyawa kontaminan pada sampel yang diisolasi seperti senyawa polisakarida, polifenol, protein, RNA, dan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tumbuhan obat (Varma et al., 2007). Menurut Ranjan et al. (2010), kehadiran senyawa kontaminan tersebut dapat menghambat berbagai proses mulai dari pemotongan DNA, amplifikasi, hingga kloning.

Jarak merupakan salah satu tanaman yang daunnya memiliki kandungan getah yang cukup tinggi sehingga mempersulit proses isolasi DNA. Menurut Devappa et al. (2010) getah jarak mengandung senyawa terpena, diterpena, dan metabolit sekunder lain. Pada beberapa metode isolasi digunakan senyawa seperti PVP, natrium disulfid, dan  $\beta$ -merkaptotanol untuk mengurangi aktivitas senyawa polifenol. Namun senyawa seperti  $\beta$ -merkaptotanol cukup berbahaya bila digunakan pada laboratorium yang tidak memiliki lemari asam. Baunya yang menyengat dapat mengganggu sistem pernafasan. Selain  $\beta$ -merkaptotanol, asam askorbat merupakan senyawa antioksidan yang dapat digunakan dalam proses isolasi DNA untuk mengurangi aktivitas senyawa polifenol. Dibanding  $\beta$ -merkaptotanol, asam askorbat merupakan senyawa yang tidak berbahaya dan tidak menimbulkan bau yang menyengat. Beberapa penelitian menunjukkan efektivitas penggunaan asam askorbat dalam proses isolasi DNA seperti pada penelitian Ginwal dan Maurya (2010) pada isolasi DNA tanaman *Dalbergia sissoo*, Borse et al. (2011) pada isolasi DNA 12 tanaman obat, dan Anuradha et al. (2013) pada isolasi DNA tanaman murbei (*Morus* spp.).

Tidak semua laboratorium memiliki senyawa asam askorbat murni untuk digunakan dalam proses isolasi DNA. Dalam kehidupan sehari-hari asam askorbat dijual secara bebas dalam bentuk tablet vitamin C 500 mg dengan harga yang cukup terjangkau. Pada penelitian ini dilakukan proses isolasi DNA tanaman jarak dengan menggunakan asam askorbat murni (laboratory grade) dan asam askorbat yang berasal dari tablet vitamin C 500 mg. Selain itu dalam proses isolasi DNA

juga dilakukan pencucian menggunakan bufer ekstraksi berulang untuk mengeliminasi senyawa polisakarida.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk memperoleh metode isolasi DNA jarak yang optimal dan mampu mengeliminasi senyawa kontaminan melalui pencucian berulang menggunakan bufer ekstraksi serta melihat bagaimana pengaruh penggunaan asam askorbat laboratory grade dengan asam askorbat yang berasal dari tablet vitamin C 500 mg dalam proses isolasi DNA jarak. Penggunaan asam askorbat yang berasal dari tablet vitamin C 500 mg diharapkan mampu menjadi pengganti asam askorbat laboratory grade bilamana senyawa tersebut tidak tersedia di laboratorium.

## BAHAN DAN METODE

### Materi Genetik

Bahan tanaman yang digunakan dalam kegiatan penelitian ini terdiri atas lima spesies jarak asal Thailand yang terdiri atas *Jatropha curcas*, *Jatropha podagrica*, *Jatropha multifida*, *Jatropha gossypifolia*, dan *Baliospermum solanifolium*, serta satu spesies yaitu *Jatropha integerrima* yang tumbuh di sekitar kawasan Kampus Penelitian Cimanggu Bogor. Bagian tanaman yang diambil berupa daun yang masih muda. Terdapat satu primer SSR yang digunakan dalam penelitian ini yaitu primer Scaffold 13-1.



Gambar 1. Materi genetik yang digunakan dalam penelitian, keterangan: (A). *Jatropha curcas*, (B). *Jatropha podagrica*, (C). *Jatropha multifida*, (D). *Baliospermum solanifolium*, (E). *Jatropha gossypifolia*, (F). *Jatropha integerrima*

### Bufer Ekstraksi

Isolasi DNA dilakukan dengan menggunakan metode CTAB (Doyle dan Doyle, 1990) yang dimodifikasi. Bahan-bahan untuk pembuatan bufer ekstraksi terdiri atas CTAB (Cetyl trimethylammonium bromide) 2% (w/v), 100 mM Tris-HCl pH 8.0, 1.4 M NaCl, 20 mM EDTA pH 8.0, PVP (Polyvinylpyrrolidone) 2% (w/v), natrium disulfid 0.3% (w/v), dan asam

askorbat laboratory grade (Merck) serta tablet vitamin C 500 mg (Kimia Farma), masing-masing dengan konsentrasi 2% (w/v).

### Metode Isolasi

Terdapat dua perlakuan asam askorbat pada penelitian ini yaitu asam askorbat laboratory grade dan asam askorbat dari tablet vitamin C 500 mg, serta terdapat dua perlakuan pencucian bufer ekstraksi yaitu sebanyak tiga kali dan lima kali, sehingga terdapat empat kombinasi perlakuan. Metode isolasi DNA yang dilakukan adalah sebagai berikut : Sebanyak 1.5 gram daun jarak yang telah dibuang tulang daunnya dari tiap sampel digerus dengan menggunakan nitrogen cair pada mortar. Bubuk hasil penggerusan kemudian dimasukkan pada tabung Eppendorf 2 ml hingga memenuhi volume 0.5 ml. Selanjutnya dilakukan pencucian dengan buffer ekstraksi melalui penambahan buffer ekstraksi sebanyak 1 ml pada tiap sampel, lalu dihomogenkan dengan cara dibolak-balik hingga tercampur merata. Campuran lalu disentrifugasi pada kecepatan 12 000 rpm selama 4 menit. Supernatan yang terbentuk kemudian dibuang.

Tahap pencucian dengan bufer ekstraksi kemudian diulangi sesuai perlakuan, sebanyak tiga kali atau lima kali. Setelah tahap pencucian selesai dilakukan penambahan bufer ekstraksi kembali sebanyak 700 µl. Selanjutnya campuran tersebut diinkubasi pada suhu 65°C di dalam water bath (Thermo Scientific, USA) selama 60 menit dan dihomogenkan dengan cara membolak-balik tabung setiap 10 menit. Usai inkubasi dilakukan penambahan 700 µl larutan kloroform:isoamil alkohol (24:1) ke dalam tiap tabung. Campuran lalu dihomogenkan dengan cara dibolak-balik selama 5 menit. Setelah itu campuran disentrifugasi pada kecepatan 12 000 rpm selama 15 menit pada suhu 200 C. Supernatan yang terbentuk lalu dipindahkan ke tabung Eppendorf baru sebanyak 600 µl. Penambahan larutan kloroform:isoamil alkohol (24 :1) diulangi sekali lagi hingga warna supernatan menjadi jernih. Supernatan yang terbentuk lalu dipindahkan ke tabung Eppendorf 1.5 ml diikuti dengan penambahan natrium asetat 3M pH 5.8 sebanyak 60 µl dan isopropanol dingin sebanyak 600 µl. Campuran kemudian didiamkan dalam lemari pendingin bersuhu -200C selama semalam.

Pada hari berikutnya dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 12 000 rpm selama 20 menit pada suhu 100C. Supernatan kemudian dibuang dan pelet DNA yang terbentuk lalu dicuci dengan menambahkan 50 µl natrium asetat 3M pH 5.8 dan 200 µl etanol

70% dingin. Pelet tersebut kemudian didiamkan pada suhu ruang selama 15 menit. Selanjutnya dilakukan sentrifugasi selama 10 menit pada kecepatan 12 000 rpm suhu 100C. Cairan etanol kemudian dibuang dan tahapan pencucian pelet diulangi sekali lagi. DNA yang telah bersih lalu divakum dengan menggunakan alat SpeedVac Concentrator Savant DNA 120 (Thermo Scientific, USA) untuk mengeringkan sisa-sisa etanol. DNA yang telah kering lalu dilarutkan dalam 50 µl larutan TE (10 mM Tris pH 8.0 dan 1 mM EDTA), dan dilakukan penambahan RNase (10 mg/ml) sebanyak 2 µl. Larutan DNA stok tersebut kemudian diinkubasi selama 1 jam pada suhu 370C. Larutan DNA stok lalu disimpan pada suhu -200C hingga siap digunakan.

### Uji Kuantitatif dan Kualitatif DNA Jarak

Larutan DNA stok jarak yang diperoleh dari hasil isolasi lalu diuji secara kuantitatif dan kualitatif untuk mengetahui tingkat kemurniannya. Kemurnian larutan DNA dapat diukur dari nilai perbandingan antara absorbansi pada panjang gelombang 260 nm (A260) dengan nilai absorbansi pada panjang gelombang 280 nm (A280). Menurut Sambrook dan Russell (1989), DNA yang kemurniannya baik memiliki nilai perbandingan A260/A280 sebesar 1.8-2.0. Uji kuantitatif larutan DNA stok jarak dilakukan dengan menggunakan alat nanodrop spektrofotometer (Thermo Scientific, USA) sedangkan uji kualitatif larutan DNA stok jarak dilakukan dengan teknik elektroforesis pada gel agarose konsentrasi 1% pada tangki berisi buffer 1x TAE, dengan tegangan 100 volt selama 30 menit. Hasil elektroforesis kemudian diamati di bawah sinar UV di dalam alat UV Transilluminator (UVP, UK).

### Amplifikasi DNA

Masing-masing sampel diamplifikasi dalam total reaksi 10 µl mengandung 20 ng DNA template; Kapa2G Fast ReadyMix (mengandung dNTP mix (0.2 mM dari tiap 1x dNTP, bufer, 1x MgCl<sub>2</sub> (1.5 mM), DNA Polymerase (0.5 U per 25 µl reaksi), dan 2x loading dye) (Kapa Biosystems, USA); primer F dan R masing-masing 10 pmol/ µl, dan MQ water. Reaksi PCR dilakukan dalam mesin PCR T1 Thermocycler (Biometra, Germany) dengan kondisi PCR seperti yang telah dilakukan Saptadi et al. (2011) dengan modifikasi pada suhu annealing sebagai berikut: denaturasi awal dilakukan pada suhu 950C selama 5 menit, diikuti oleh sebanyak 35 siklus proses denaturasi pada suhu 940C selama 30 detik, annealing (tahap penempelan primer) pada suhu 560C selama 1 menit, dan

elongation (tahap perpanjangan basa) pada suhu 72°C selama 1 menit. Reaksi PCR diakhiri dengan siklus final extension (tahap akhir perpanjangan basa) pada suhu 72°C selama 5 menit. Hasil PCR kemudian dielektroforesis pada gel agarosa 1% pada tangki berisi buffer 1x TAE, dengan tegangan 100 volt selama 30 menit.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Jarak merupakan tanaman tahunan dengan kandungan getah yang cukup tinggi. Getah pada tanaman jarak mengandung senyawa metabolit sekunder yang dapat menghambat proses amplifikasi DNA. Oleh karena itu perlu dilakukan optimasi metode isolasi untuk memperoleh DNA dengan kualitas yang baik untuk mendukung kegiatan molekuler selanjutnya yang akan dilakukan. Ada banyak faktor yang mempengaruhi proses isolasi DNA antara lain bagaimana memilih jenis jaringan yang akan digunakan dan umur jaringan tersebut, bagaimana menangani dan menyimpan jaringan tersebut sebelum diisolasi DNA, dan bagaimana melakukan homogenasi jaringan tersebut, terutama pada jaringan tumbuhan yang dinding selnya banyak mengandung senyawa polisakarida (Varma et al., 2007). Menurut Syafaruddin dan Santoso (2011) terdapat tiga faktor penentu dalam proses ekstraksi dan purifikasi DNA secara optimal antara lain proses penghomogenan jaringan tanaman, komposisi penambahan larutan buffer pada saat penggerusan daun/jaringan tanaman sampel, dan penghilangan enzim penghambat polisakarida khususnya untuk tanaman tahunan. Oleh sebab itu Varma et al. (2007) menyatakan bahwa proses isolasi DNA lebih merupakan sebuah seni dibanding sains.

Pada metode isolasi DNA jarak yang dilakukan, terdapat beberapa modifikasi dari metode CTAB yang dikembangkan oleh Doyle dan Doyle (1990). Modifikasi tersebut antara lain berupa penambahan senyawa PVP, natrium disulfid, dan asam askorbat. Pada bagian awal juga terdapat perlakuan pencucian dengan bufer ekstraksi sebanyak tiga dan lima kali. Tujuan dari pencucian tersebut adalah untuk menghilangkan senyawa polisakarida yang terdapat pada sampel yang digunakan.

Menurut Anuradha et al. (2013) CTAB merupakan detejen kationik yang bersifat melarutkan membran plasma dan membentuk kompleks ikatan dengan fruktan serta senyawa polisakarida lainnya yang nantinya dapat dihilangkan selama penambahan senyawa kloroform. Proses eliminasi senyawa

polisakarida merupakan tahapan yang penting karena menurut Varma et al. (2007) polisakarida seringkali mengendap bersama dengan DNA, menyebabkan tekstur larutan DNA menjadi kental dan lengket. Menurut Fang et al. (1992) kehadiran senyawa polisakarida dapat menghambat aktivitas enzim restriksi dan Taq Polymerase. Penambahan senyawa PVP pada metode ini berfungsi untuk mengurangi oksidasi senyawa fenolik. PVP akan membentuk senyawa kompleks melalui ikatan hidrogen dengan senyawa fenolik dan terendap bersama debris sel sehingga mencegah terjadinya interaksi antara polifenol dengan DNA (Michiels, et al., 2002; Anuradha et al., 2013)

Hasil isolasi menunjukkan bahwa proses pencucian sebanyak tiga kali sudah cukup untuk memperoleh DNA jarak dengan kualitas yang baik. Hal ini terlihat pada konsentrasi DNA hasil pengukuran pada alat nanodrop spektrofotometer bahwa baik pada pencucian tiga kali maupun pencucian lima kali, DNA yang dihasilkan memiliki perbandingan A260/A280 berkisar antara 1.8-2.0 (Tabel 1). Pada sampel *Jatropha gossypifolia* perlakuan pencucian tiga kali dan asam askorbat laboratory grade, terlihat bahwa nilai perbandingan A260/A280 sebesar 1.78 masih berada di bawah standar 1.8-2.0, akan tetapi hasil uji kualitatif dengan agarose 1% menunjukkan bahwa pita DNA sampel tersebut masih terlihat dan tidak menunjukkan adanya degradasi (smearing). Pada saat diamplifikasi, pita hasil amplifikasinya juga tervisualisasi dengan jelas di bawah sinar UV (Gambar 2).

Hal ini menunjukkan bahwa metode isolasi yang digunakan sudah sesuai untuk kegiatan isolasi DNA jarak. Pada sampel *Jatropha gossypifolia* perlakuan pencucian tiga kali dan asam askorbat laboratory grade meskipun nilai perbandingan A260/A280 masih di bawah standar namun diduga pada sampel tersebut sudah tidak terdapat kontaminasi polisakarida karena polisakarida sifatnya menghambat kerja enzim Taq Polymerase selama proses amplifikasi berlangsung.

Pada metode ini juga dilakukan penambahan senyawa asam askorbat pada bufer ekstraksi. Asam askorbat merupakan senyawa berbentuk serbuk berwarna putih atau agak kuning, bersifat nonhigroskopis, tidak berbau, dan warnanya perlahan akan berubah menjadi gelap di bawah paparan cahaya (Kibbe, 2009). Penambahan asam askorbat pada proses isolasi DNA berfungsi sebagai antioksidan untuk mencegah oksidasi oleh senyawa fenolik dan terjadinya adsorpsi senyawa tersebut oleh molekul DNA (Anuradha et al., 2013).

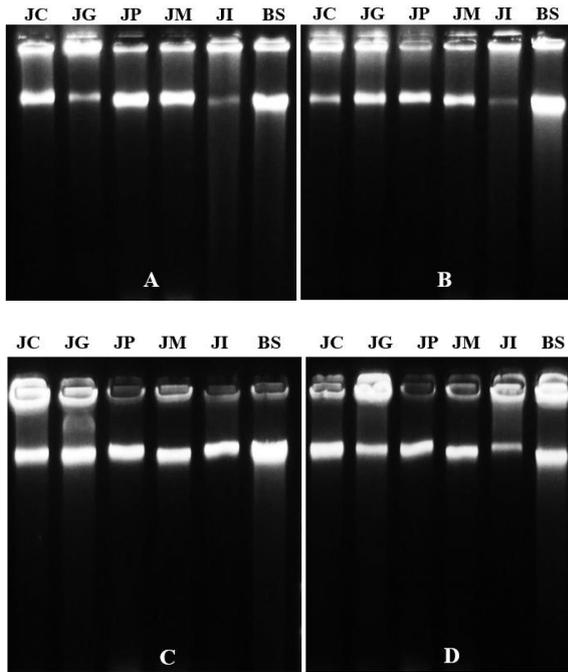
Peran dari senyawa asam askorbat selama proses isolasi DNA telah diteliti oleh Borse et al. (2011). Menurutnya pada saat jaringan tanaman dihancurkan, bagian sel yaitu vakuola akan mengeluarkan metabolit sekunder yang selama ini disimpan. Kondisi bufer yang bersifat basa akibat adanya senyawa deterjen (CTAB) membuat proses oksidasi senyawa polifenol berlangsung lebih mudah. Begitu senyawa polifenol teroksidasi dia akan berikatan secara kovalen dengan DNA dan pada saat proses penambahan alkohol akan ikut terendap bersama DNA, menjadikan endapan berwarna cokelat dan larutan menjadi lebih kental (Guillemaut dan Maréchal-Drouard, 1992). Menurut Borse et al. (2011) penambahan asam askorbat pada buffer ekstraksi akan menurunkan pH larutan tersebut yang semula bersifat basa dengan rentang pH antara 7.5-8.5 menjadi berkisar antara 6-6.5 dan selama proses penambahan kloroform : isoamil alkohol, pH larutan akan kembali turun hingga rentang 5.5-6.0. Kondisi

bufer yang bersifat asam akan mencegah proses oksidasi senyawa polifenol. Namun pemberian asam askorbat pada bufer ekstraksi tidak boleh melebihi konsentrasi di atas 40 mM karena pH larutan yang terlalu asam justru akan berbahaya bagi DNA (Borse et al., 2011).

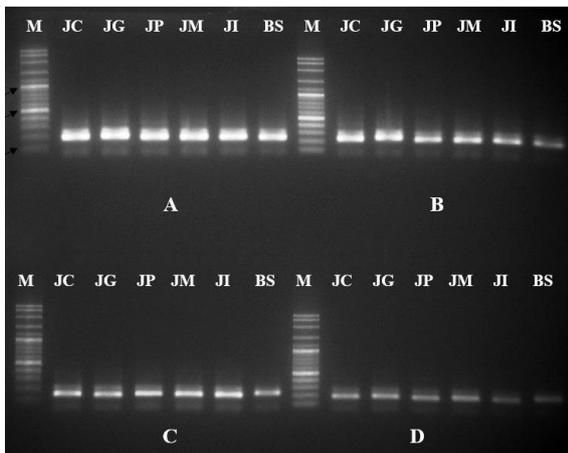
Hasil isolasi menunjukkan bahwa penambahan asam askorbat baik laboratory grade maupun yang berasal dari tablet vitamin C 500 mampu menghasilkan DNA dengan kualitas yang baik. (Tabel 1 dan Gambar 1). DNA yang dihasilkan oleh kedua perlakuan tersebut mampu diamplifikasi dan pita hasil amplifikasinya dapat divisualisasi di bawah sinar UV. Secara ekonomis harga tablet vitamin C 500 mg lebih murah dibanding asam askorbat laboratory grade. Hal ini menguntungkan bagi laboratorium yang ketersediaan dananya terbatas karena penggunaan asam askorbat laboratory grade bisa disubstitusi oleh senyawa sejenis yang harganya lebih terjangkau.

Tabel 1. Hasil Uji Kuantitatif DNA Jarak pada Berbagai Perlakuan

<b>Perlakuan Pencucian 3 kali dan Asam Askorbat <i>laboratory grade</i></b>		
Sampel	Konsentrasi DNA (ng/μl)	A260/A280
<i>Jatropha curcas</i>	1109.2	1.83
<i>Jatropha gossypifolia</i>	890.2	1.78
<i>Jatropha podagrica</i>	1312.7	1.83
<i>Jatropha multifida</i>	2543.2	1.84
<i>Jatropha integerrima</i>	2566.1	1.87
<i>Baliospermum solanifolium</i>	999.0	1.86
<b>Perlakuan Pencucian 5 kali dan Asam Askorbat <i>laboratory grade</i></b>		
Sampel	Konsentrasi DNA (ng/μl)	A260/A280
<i>Jatropha curcas</i>	1255.6	1.84
<i>Jatropha gossypifolia</i>	848.4	1.81
<i>Jatropha podagrica</i>	995.0	1.83
<i>Jatropha multifida</i>	2446.4	1.83
<i>Jatropha integerrima</i>	2707.6	1.85
<i>Baliospermum solanifolium</i>	1084,8	1.88
<b>Perlakuan Pencucian 3 kali dan Tablet Vitamin C 500 mg</b>		
Sampel	Konsentrasi DNA (ng/μl)	A260/A280
<i>Jatropha curcas</i>	1718.4	1.89
<i>Jatropha gossypifolia</i>	2404.7	1.89
<i>Jatropha podagrica</i>	2933.2	1.92
<i>Jatropha multifida</i>	4289.4	1.90
<i>Jatropha integerrima</i>	1226.7	1.97
<i>Baliospermum solanifolium</i>	1716.1	1.95
<b>Perlakuan Pencucian 5 kali dan Tablet Vitamin C 500 mg</b>		
Sampel	Konsentrasi DNA (ng/μl)	A260/A280
<i>Jatropha curcas</i>	1949.8	1.92
<i>Jatropha gossypifolia</i>	2602.6	1.89
<i>Jatropha podagrica</i>	2378.4	1.90
<i>Jatropha multifida</i>	2962.4	1.86
<i>Jatropha integerrima</i>	1232.3	1.92
<i>Baliospermum solanifolium</i>	1905.9	1.97



Gambar 1. Hasil uji kualitatif DNA jarak pada agarose 1%. (A). Perlakuan pencucian 3 kali/ asam askorbat laboratory grade, (B). Perlakuan pencucian 5 kali/ laboratory grade, (C). Perlakuan pencucian 3 kali/ tablet vitamin C 500 mg, (D). Perlakuan pencucian 3 kali/ tablet vitamin C 500 mg. Keterangan : JC: *Jatropha curcas*, JG: *Jatropha gossypifolia*, JP: *Jatropha podagrica*, JM: *Jatropha multifida*, JI: *Jatropha integerrima*, dan BS: *Baliospermum solanifolium*.



Gambar 2. Hasil amplifikasi DNA jarak dengan primer Scaffold 13-1 pada gel agarose 1%. (A). Perlakuan pencucian 3 kali/ asam askorbat laboratory grade, (B). Perlakuan pencucian 5 kali/ laboratory grade, (C). Perlakuan pencucian 3 kali/ tablet vitamin C 500 mg, (D). Perlakuan pencucian 3 kali/ tablet vitamin C 500 mg. Keterangan : M : Marker 100 bp plus (Vivantis, Malaysia), JC : *Jatropha curcas*, JG : *Jatropha gossypifolia*, JM : *Jatropha multifida*, JI : *Jatropha integerrima*, dan BS : *Baliospermum solanifolium*.

## KESIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan

Metode isolasi DNA jarak melalui pencucian berulang menggunakan bufer ekstraksi dan penambahan asam askorbat mampu menghasilkan DNA jarak dengan kualitas dan kuantitas yang baik. Hasil isolasi menunjukkan bahwa pencucian bufer sebanyak tiga kali sudah cukup untuk menghasilkan DNA stok dengan kualitas yang baik. Hasil PCR menunjukkan bahwa semua sampel yang diisolasi pada setiap perlakuan dapat diamplifikasi dan pita hasil amplifikasinya dapat tervisualisasi dengan jelas di bawah sinar UV. Tablet vitamin C 500 mg dapat digunakan sebagai pengganti asam askorbat murni dalam proses isolasi DNA jarak bila senyawa tersebut tidak tersedia di laboratorium.

### DAFTAR PUSTAKA

- Anuradha, H.J., K. Vijayan, C.V. Nair, and A. Manjula. 2013. A novel and efficient protocol for the isolation of genomic DNA from mulberry (*Morus L.*). *Emir. J. Food Agric.* 25(2) : 124-131.
- Borse, T., P. Joshi, and S. Chaphalkar. 2011. Biochemical role of ascorbic acid during the extraction of nucleic acids in polyphenol rich medicinal plant tissues. *J. Plant. Mol. Biol. Biotechnol.* 2(2) : 1-7.
- Devappa, R.K., H.P.S. Makkar, K. Becker. 2011. *Jatropha* diterpenes: a review. *J Am Oil Chem Soc* 88: 301-322.
- Erythrina. 2007. Jarak Tanam dan Pemupukan Fosfat pada Tanaman Jarak Pagar (*Jatropha curcas L.*) di Propinsi Lampung. hlm. 43-49. Dalam: E. Karmawati, A. Wahyudi, D.S. Effendi, I.N. Maya, Sumanto, Yusniarti, dan Mukhasim (Eds.). *Prosiding Lokakarya-II Status Teknologi Tanaman Jarak Pagar Jatropha curcas L.* Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan.
- Fang, G., S. Hammar, and R. Grumet. 1992. A quick and inexpensive method for removing polysaccharides from plant genomic DNA. *Biotechniques* 13: 52-54.
- Ginwal, H.S. and S.S. Maurya. 2010. Evaluation and optimization of DNA extraction method for *Dalbergia sissoo* leaf. *Indian J Biotechnol* 9 : 69-73.
- Guillemaut, P. and L. Maréchal-Drouard. 1992. Isolation of plant DNA: a fast, inexpensive, and reliable method. *Plant Molecular Biology Reporter* 10(1): 60-65.

- Hambali, E. 2007. Diversifikasi Produk Olahan Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.). hlm. 181-194. Dalam: E. Karmawati, A. Wahyudi, D.S. Effendi, I.N. Maya, Sumanto, Yusniarti, dan Mukhasim (Eds.). *Prosiding Lokakarya-II Status Teknologi Tanaman Jarak Pagar Jatropha curcas* L. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan.
- Heller, J. 1996. Physic nut (*Jatropha curcas* L.). In Promoting the Conservation and Use of Underutilized and Neglected Crops 1:1-66.
- Kibbe, A.H. 2009. *Ascorbic Acid*. In : Rowe, R.C., P.J. Sheskey, and M.E. Quinn (Eds). *Handbook of Pharmaceutical Excipients 6th edition*. Pharmaceutical Press, London. 888 p.
- Kumar, R.S., K.T. Parthiban, P. Hemalatha, T. Kalaiselvi, and M. Govinda Rao. 2009. Investigation on cross-compatibility barriers in the biofuel crop *Jatropha curcas* L. with wild *Jatropha* species. *Crop Science* 49: 1667-1674.
- Michiels, A., W. Van den Ende, M. Tucker, L. Van Riet, and A. Van Laere. 2003. Extraction of high-quality genomic DNA from latex-containing plants. *Analytical Biochemistry* 315 : 85-89.
- Ranjan, S., G. Kishore, V.S. Jadon, J.P. Bhatt, and S. Gupta. 2010. Standardization of extraction of genomic DNA and PCR-RFLP conditions of *Allium stracheyi*: a high altitude plant. *Academia Arena* 2(7): 11-14.
- Ratha, K.P. and M. Paramathma. 2009. Potentials and *Jatropha* species wealth of India. *Current Science* 97: 1000-1004.
- Sambrook, J. and D.W. Russell. 1989. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual 2nd edition*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York. 165 p.
- Saptadi, D., R.R.S Hartati, A. Setiawan, B. Heliyanto, dan Sudarsono. 2011. Pengembangan marka simple sequence repeat untuk *Jatropha* spp. *Jurnal Littri* 17(4) : 140-149.
- Syafaruddin dan T.J. Santoso. 2011. Optimasi teknik isolasi dan purifikasi DNA yang efisien dan efektif pada kemiri sunan (*Reutalis trisperma* (Blanco) Airy Shaw). *Jurnal Littri* 17(1): 11-17.
- Syukur, M., S. Sujiprihati, dan R. Yuniarti. 2012. *Teknik Pemuliaan Tanaman*. Penebar Swadaya, Jakarta. 348 p.
- Varma, A., H. Padh, and N. Shrivastava. 2007. Plant genomic DNA isolation: an art or a science. *Biotechnol. J.* 2: 386-392.

---

# JURNAL AGROTEKNOLOGI

*Journal of Agrotechnology*

PENGARUH PEMBERIAN PUPUK KALIUM DAN CAMPURAN KOMPOS TANDAN KOSONG KELAPA SAWIT DENGAN ABU BOILER TERHADAP PERTUMBUHAN DAN HASIL TANAMAN BAWANG MERAH ( <i>Allium ascalonicum</i> L.) <i>The Effect of Potassium Fertilizer and Compost Mixture of Oil Palm Empty Bunches with Boiler Ash on Growth and Yield of Onion (Allium ascalonicum L.)</i> Dian Fikri Alfian, Nelvia, Husna Yetti .....	1-6
DAMPAK PERKEBUNAN KELAPA SAWIT TERHADAP PEREKONOMIAN WILAYAH DI KABUPATEN ROKAN HULU <i>The Impact of Palm Plantation Development in the Economic Region in Rokan Hulu district</i> Irsyadi Siradjuddin .....	7-14
OPTIMASI METODE ISOLASI DNA PADA <i>Jatropha</i> spp. <i>Optimization of DNA Isolation Method on Jatropha spp.</i> Kristianto Nugroho, Rerenstradika T. Terryana, dan Puji Lestari .....	15-22
ANALISIS SIFAT FISIKA TANAH GAMBUT PADA HUTAN GAMBUT DI KECAMATAN TAMBANG KABUPATEN KAMPAR PROVINSI RIAU <i>Analysis of Soil Physical Peat Land in Peat Forests in Tambang Sub-District, Kampar District, Riau Province</i> Susandi, Oksana, dan Ahmad Taufiq Arminudin .....	23-28
OPTIMASI NAA DAN BAP TERHADAP PERTUMBUHAN DAN PERKEMBANGAN TUNAS MIKRO TANAMAN KANTONG SEMAR ( <i>Nepenthes mirabilis</i> ) SECARA IN VITRO <i>Optimize Of NAA And BAP On Growth And Development Of Micro Shoots Pitcher Plant (Nepenthes Mirabilis) Through In Vitro</i> Rosmaina dan Dinni Aryani .....	29-36
APLIKASI PUPUK KANDANG SAPI DAN AYAM TERHADAP PERTUMBUHAN DAN HASIL TANAMAN JAHE ( <i>Zingiber officinale</i> Rosc.) DI MEDIA GAMBUT <i>The Application of Cattle Chicken Manures With Different Dosages on The Growth and Yield of Ginger (Zingiber officinale Rosc.) in Peat Media</i> Yuliana, Elfi Rahmadani, dan Indah Permanasari .....	37-42