

## OTIMASI METODE ISOLASI DNA SAMPEL FTA CARDS MENGUNAKAN *PURELINK*<sup>®</sup> *GENOMIC DNA KITS* DAN CHELEX-100

## OPTIMIZATION OF FTA CARDS SAMPLE DNA ISOLATION METHOD USING *PURELINK*<sup>®</sup> *GENOMIC DNA KITS* AND CHELEX-100

Yeni Alfiana Ratnasari<sup>1</sup>, Imaniar Noor Faridah, M.Sc., Apt<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan  
Jl. Prof. Dr. Soepomo, Janturan, Yogyakarta 55164

Corresponding author's email : [yeni1500023148@webmail.uad.ac.id](mailto:yeni1500023148@webmail.uad.ac.id)

### ABSTRAK

Teknologi *Flinders Technology Associates* (FTA) merupakan sistem berbasis kertas saring, dimana dapat melindungi sampel dari kerusakan dan degradasi, memungkinkan penyimpanan jangka panjang dan penyimpanan asam nukleat pada suhu kamar. Ada berbagai macam metode dan dengan berbagai jenis reagen yang dapat digunakan untuk proses ekstraksi DNA dan masing-masing metode memiliki kelebihan dan kelemahan. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui hasil optimasi isolasi DNA sampel *FTA cards* menggunakan variasi metode *PureLink*<sup>®</sup> *Genomic DNA Kits* dan metode Chelex-100.

Penelitian ini merupakan penelitian non eksperimental. Sampel berupa darah tepi yang diambil menggunakan pen lanset kemudian disimpan di dalam kertas *Whatman* sebanyak 16 sampel darah manusia sehat. Penelitian optimasi metode isolasi DNA sampel *FTA card* jenis *Whatman WB120210 FTA Micro Card with 1-Sample Area* menggunakan metode *PureLink*<sup>®</sup> *Genomic DNA Kits* dan Chelex-100 dilakukan dengan deskriptif kualitatif yakni dengan melihat pita yang terbentuk setelah dilakukan elektroforesis dan deskriptif kuantitatif dengan melihat kemurnian dan konsentrasi DNA menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Pada metode *PureLink*<sup>®</sup> *Genomic DNA kits* yang divariasi dengan penambahan SDS 10% dan metode Chelex-100 terbentuk pita DNA pada gel agarose dengan ketebalan pita yang sangat tipis. Data kemurnian yang diperoleh bervariasi antara 1,035 sampai 1,162 dan konsentrasi antara 190 sampai 1240 ng/μl.

Hasil dari data kualitatif dan kuantitatif yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa hasil isolasi DNA menggunakan variasi metode *PureLink*<sup>®</sup> *Genomic DNA kits* dengan penambahan SDS 10% dan metode Chelex-100 masih terdapat pengotor.

**Kata Kunci** : *FTA card*, Isolasi DNA, *PureLink*<sup>®</sup> *Genomic DNA kits*, Chelex-100.

## **ABSTRACT**

*Flinders Technology Associates (FTA) technology is a filter paper based system, which can protect samples from damage and degradation, enabling long-term storage and storage of nucleic acids at room temperature. There are various methods and with various types of reagents that can be used for the DNA extraction process and each method has advantages and disadvantages. The purpose of this study was to determine the results of optimization of DNA isolation of FTA cards samples using a variation of the PureLink® Genomic DNA Kits method and the Chelex-100 method.*

*This research is non-experimental. Samples of peripheral blood were taken using a lancet pen is then stored in Whatman paper as much as 16 healthy human blood samples. Optimization study sample DNA isolation method Whatman FTA card-type WB120210 FTA Micro Card with 1-Sample PureLink® Area using Genomic DNA Kits and Chelex-100 made by qualitative descriptive by looking at the ribbon formed after electrophoresis and quantitative descriptive see purity and DNA concentration using UV-Vis spectrophotometer.*

*With variations of the PureLink® Genomic DNA kits method with the addition of SDS 10% and the Chelex-100 method DNA bands were formed on agarose gels with a very thin band thickness. The purity data obtained varied between 1.035 to 1.162 and concentrations between 190 to 1240 ng/μl.*

*The results of the qualitative and quantitative data obtained can be concluded that the results of DNA isolation using variations of the PureLink® Genomic DNA kits method with the addition of 10% SDS and the Chelex-100 method still have impurities.*

*Keywords : FTA card, DNA isolation, PureLink® Genomic DNA kits, Chelex-100.*

## **PENDAHULUAN**

Isolasi DNA merupakan tahap pertama dari berbagai teknologi analisis DNA. DNA dapat ditemukan baik pada kromosom inti maupun pada organel, yaitu pada mitokondria dan kloroplas. Untuk mengekstrak DNA diperlukan langkah-langkah laboratorium untuk memecahkan dinding sel dan membran inti, yang dilanjutkan dengan pemisahan DNA dari berbagai komponen sel yang lain. Pada saat melakukannya, DNA harus dijaga agar tidak rusak dan didapatkan DNA dalam bentuk rantai yang panjang (Fatchiyah *et al.*, 2011).

Untuk sebagian besar metode ekstraksi DNA, penggunaan laboratorium biologi molekuler fungsional sangat penting, tetapi penyimpanan sampel darah dingin atau beku sebelum analisis di laboratorium khusus mungkin sulit dalam situasi lapangan di mana suhu dingin tidak tersedia (Hailemariam *et al.*, 2016)

Dengan tidak adanya suhu dingin fungsional, penyimpanan darah pada kertas saring merupakan alternatif yang baik. Teknologi *Flinders Technology Associates (FTA®)* (Whatman) telah meningkatkan sistem berbasis kertas saring, melindungi sampel dari kerusakan dan degradasi, memungkinkan penyimpanan jangka panjang dan penyimpanan asam nukleat pada suhu kamar (Ahmed *et al.*, 2011). Selain itu, patogen potensial dilisiskan dan menjadi tidak aktif pada kartu FTA, membuat sampel aman untuk ditangani dan dibawa (Abdelwhab *et al.*, 2011)

Ada berbagai macam metode dan dengan berbagai jenis reagen yang dapat digunakan untuk proses ekstraksi DNA dan masing-masing metode memiliki kelebihan dan kelemahan. Metode ekstraksi DNA diantaranya metode *Ion Exchange Resin Chelex* yang mana menggunakan Resin Chelex untuk mengesktrak DNA dengan cara memanaskannya pada suhu tertentu (*hot shock*). Resin Chelex mampu melindungi melindungi sampel dari enzim DNase yang mungkin tetap aktif selama proses ekstraksi dengan pengikatan ion dan kation (Marwayana, 2015).

Selain metode *Ion Exchange Resin Chelex* , terdapat metode lain untuk mengekstraksi DNA yakni metode *Double Spin Column* dengan penggunaan membran silika untuk memerangkap DNA yang telah keluar dari sel, contohnya *PureLink® Genomic DNA kits*. Penggunaan kit dengan reagen khusus yang biasanya digunakan dalam metode ini mampu meningkatkan kuantitas dan kualitas DNA yang dihasilkan (Marwayana, 2015).

## **METODE PENELITIAN**

### **Alat dan Bahan**

Alat yang digunakan yaitu kertas *whatman*, elektroforesis, *centrifuge*, *waterbath*, *microcentrifuge tube*, mikropipet dan tabung *eppendorf*, tip, dan lampu UV. Bahan yang digunakan yaitu sampel darah manusia sehat, *PureLink® Genomic DNA kits*, , Saponin 1%, Chelex-100 5%, *ethanol* 96-100%, *ethanol* 70%, *Loading Dye*, *Gel Red*, *Aquabides*, *Agarose*, TAE 0,5x.

### **Jalannya penelitian**

### **a. Preparasi sampel untuk isolasi DNA**

Sekitar 40  $\mu$ l darah ditotolkan di atas FTA *card*, di diamkan semalaman di suhu ruang dengan udara kering, kemudian FTA *card* dipotong-potong dengan ukuran 2-3 mm setelah itu diletakkan ke dalam *microcentrifuge tube* untuk selanjutnya dilakukan tahap isolasi DNA.

### **b. Isolasi DNA**

Isolasi DNA dari FTA *cards* menggunakan protokol berikut :

#### a) *PureLink*<sup>®</sup> *Genomic DNA Kits*

Pada metode ini mengikuti protokol *PureLink Genomic DNA Kits* untuk isolasi DNA dari FTA *card* yakni dengan tahapan *Blood Spots*, *Binding DNA*, *Washing DNA*, dan *Eluting DNA*.

#### b) *PureLink*<sup>®</sup> *Genomic DNA Kits* dengan inkubasi semalaman

Pada metode ini mengikuti protokol *PureLink Genomic DNA Kits* untuk isolasi DNA dari FTA *card*, hanya saja dilakukan inkubasi selama semalaman pada tahapan *Blood Spots* dengan suhu 60° C, kemudian dilanjutkan dengan proses *Binding DNA*, *Washing DNA*, dan *Eluting DNA*.

#### c) *PureLink*<sup>®</sup> *Genomic DNA Kits* dengan penambahan SDS 10%

Pada metode ini mengikuti protokol *PureLink Genomic DNA Kits* untuk isolasi DNA dari FTA *card*, hanya saja setelah FTA *card* dipotong-potong kecil dan dimasukkan ke dalam *microcentrifuge tube* dilakukan penambahan 50  $\mu$ L SDS 10% kemudian diinkubasi 37° C selama satu jam kemudian dilanjutkan ke tahap *Blood Spots*, *Binding DNA*, *Washing DNA*, dan *Eluting DNA*.

#### d) Metode Chelex-100

Sampel FTA *card* dipotong kecil-kecil dan dimasukkan ke dalam tube 1,5 mL. Selanjutnya ditambahkan 1 mL Saponin 1%, dan divortex. Kemudian diinkubasi pada suhu 4° C selama 1 jam. Setelah diinkubasi dipipetting beberapa kali, dan filtrat dipindahkan ke tube 1,5 mL yang baru. Tube yang berisi filtrat dicentrifuge dengan kecepatan 15000 xg selama 5 menit di suhu ruang. Setelah centrifuge akan terbentuk pellet di dasar tube, filtrat dibuang dengan menyisakan pellet di dasar tube. Tube berisi

pellet ditambahkan Chelex-100 5% sebanyak 70  $\mu$ L kemudian diinkubasi pada suhu 99° C selama 10 menit. Kemudian dicentrifuge kembali dengan kecepatan 15000 xg selama 5 menit di suhu ruang. Filtrat kemudian dipindahkan ke tube 1,5 yang baru. Filtrat berisi DNA kemudian disimpan di suhu -20° C.

### **c. Elektroforesis DNA**

Untuk mengetahui ada tidaknya DNA dari hasil isolasi DNA yang telah dilakukan dibuktikan menggunakan elektroforesis *gelagarose* 1% dimulai dengan melakukan penimbangan *agarose* sebanyak 0,5 gr dan dimasukkan dalam erlenmeyer 100 ml. Selanjutnya TAE 0,5x ditambahkan sebanyak 50 ml. Agarose tersebut kemudian dimasukkan ke dalam *microwave* hingga dapat terlarut dalam TAE 0,5x. *Gelagarose* yang masih panas didiamkan hingga hangat kuku. Cetakan *agarose* disiapkan beserta sisirnya untuk proses pencetakan *gel agarose*. *Gel agarose* kemudian dituangkan ke dalam cetakan dan dibiarkan hingga gel mengeras selama 15 menit.

Selanjutnya dilakukan running elektroforesis dengan menyiapkan tangki elektroforesis horizontal kemudian dipasang *gel agarose* beserta cetakannya ke dalam tangki elektroforesis. TAE 0,5x dituangkan ke dalam tangki elektroforesis hingga gel elektroforesis terendam TAE 0,5x sampai batas yang tertera pada tangki ( $\pm$  250 ml). DNA sampel diambil sebanyak 3  $\mu$ L kemudian dicampur dengan *loading dye* 2  $\mu$ L dan *GelRed5*  $\mu$ L. Setelah itu, campuran tersebut dimasukkan ke dalam sumur gel elektroforesis. Tangki elektroforesis kemudian ditutup dan disambungkan dengan *power supply* dinyalakan dan diatur waktu 10 menit, tegangan 100 Volt dan arus 400 mA kemudian dilakukan *running*. Setelah di *running* kemudian dilakukan visualisasi DNA menggunakan *gel documentation*.

### **d. Kemurnian dan Konsentrasi DNA**

Uji kemurnian dan konsentrasi DNA menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis. Kemurnian DNA diukur dengan menghitung jilai absorbansi 260 nm dibagi dengan nilai absorbansi 280 nm ( $A_{260}/A_{280}$ ), dan nilai kemurnian DNA berkisar 1,8 sampai 2,0. Untuk mengukur konsentrasi DNA dari perkalian antara nilai absorbansi 260 nm ( $A_{260}$ ), faktor konversi (50 $\mu$ g/ml) dan faktor pengencer.

## **Analisis Data**

Penelitian optimasi isolasi DNA sampel FTA Card menggunakan variasi metode *PureLink® Genomic DNA kits* dan Chelex-100 dilakukan dengan deskriptif kualitatif yakni dengan melihat pita yang terbentuk menggunakan *gel documentation* setelah dilakukan elektroforesis dan deskriptif kuantitatif dengan melihat kemurnian DNA dengan spektrofotometri UV-Vis dan dihitung nilai absorbansi 260 nm dibagi dengan nilai absorbansi 280 nm ( $A_{260}/A_{280}$ ), dan nilai kemurnian DNA berkisar 1,8 hingga 2,0 (Fatchiyah *et al.*, 2011)

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **A. Isolasi DNA sampel FTA Card dengan variasi metode metode *PureLink® Genomic DNA Kits***

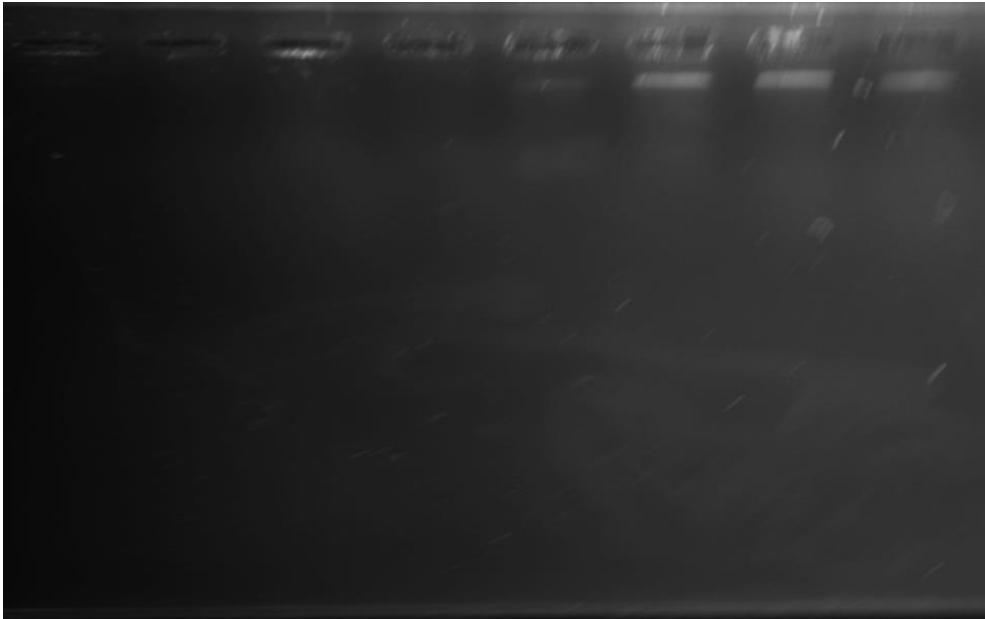
Sebanyak 8 sampel darah dilakukan isolasi DNA menggunakan *PureLink® Genomic DNA kits*. Prosedur yang dilakukan sesuai dengan protokol yang tertera pada kit tersebut. Sampel darah tepi diambil menggunakan *pen lancet* yang digunakan untuk melubangi ujung jari tempat pengambilan darah (Weiner, 2010) kemudian disimpan di dalam FTA *card*.

Darah diambil menggunakan lanset steril bertujuan agar darah tidak terkontaminasi dan menghindari hal-hal yang tidak diinginkan, selanjutnya sekitar 40 $\mu$ L darah ditotolkan di atas FTA *card*, didiamkan semalaman di suhu ruang dengan udara kering, kemudian FTA *card* dipotong-potong dengan ukuran 2-3 mm setelah itu diletakkan ke dalam *microcentrifuge tube* untuk selanjutnya dilakukan tahap isolasi DNA.

Isolasi DNA menggunakan *PureLink® Genomic DNA Kit*, tahap isolasi meliputi tahap *Blood Spots*, *Binding DNA*, *Washing DNA*, dan *Elution DNA*.

Hasil isolasi dengan *PureLink® Genomic DNA Kits* dalam penelitian ini dibuktikan dengan pengujian secara kualitatif. Uji kualitatif dilakukan dengan melihat keberadaan pita DNA pada gel agarose. Hasil uji kualitatif ditunjukkan pada gambar 5.

A1      B1      C1      D1      E1      F1      G1      H1



**Gambar 1. Hasil elektroforesis DNA variasi metode *PureLink® Genomic DNA kits*; (A1) *PureLink® Genomic DNA kits*; (B1) *PureLink® Genomic DNA kits*; (C1) *PureLink® Genomic DNA kits*; (D1) *PureLink® Genomic DNA kits* dengan inkubasi semalaman; (E1) *PureLink® Genomic DNA kits* dengan penambahan SDS 10%, (F1) *PureLink® Genomic DNA kits* dengan penambahan SDS 10%; (G1) *PureLink® Genomic DNA kits* dengan penambahan SDS 10%; (H1) *PureLink® Genomic DNA kits* dengan penambahan SDS 10%**

Berdasarkan gambar 1 di atas menunjukkan bahwa metode *PureLink® Genomic DNA kits* dan dengan variasi metode yakni inkubasi semalaman tidak menunjukkan terbentuknya pita DNA pada gel agarose. Waktu inkubasi yang lebih lama pada suhu 37°-56° C kadang dibutuhkan untuk optimalisasi kerja proteinase K (Promega, 2010), dimana proteinase K berfungsi untuk melisiskan membran pada sel darah (Khosravinia *et al.*, 2007).

Akan tetapi dalam penelitian Aditya dan Widodo (2014) mengenai amplifikasi *enhancer* gen renin C-5312T pada pasien hipertensi di rumah sakit Dr. Saiful Anwar Malang, di mana pada proses isolasi DNA menggunakan *PureLink® Genomic DNA kits*

didapat DNA dari 21 pasien telah terisolasi dengan ditunjukkannya pita pada *agarose* 1%.

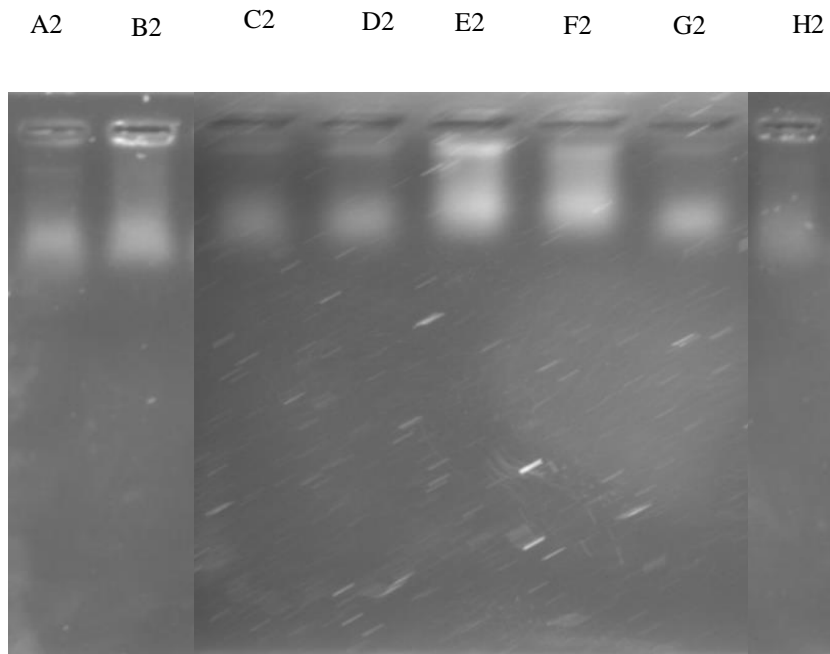
Sedangkan dengan variasi metode dengan penambahan SDS 10% terbentuk pita DNA pada *gel agarose*. Larutan SDS berfungsi untuk memecah dinding atau membran sel. SDS dapat melarutkan lipid pada membran sel sehingga terjadi destabilisasi membran sel (Surzycki, 2000). Selain berperan dalam melisiskan membran sel, SDS juga dapat berperan dalam mengurangi aktivitas enzim nuklease yang merupakan enzim pendegradasi DNA (Switzer, 1999). Dinding sel yang telah pecah menyebabkan organel-organel didalam sel keluar termasuk protein-protein yang terdapat didalam sitoplasma sehingga DNA perlu dibersihkan dari pengotor-pengotor tersebut (Sambrook *et al.*, 1989). Sehingga dengan dilakukan penambahan larutan SDS 10% didapatkan hasil isolasi DNA (+). Namun tampak adanya *smear* pada bagian bawah pita DNA. *Smear* yang muncul pada gel agarose menandakan adanya materi selain DNA yang ikut terisolasi, sehingga memunculkan *smear* di bawah pita DNA (Anam, 2010).

#### **B. Isolasi DNA sampel FTA card menggunakan metode Chelex-100**

Sebanyak 8 sampel darah yang disimpan dalam FTA card diisolasi menggunakan metode Chelex-100. Metode yang di pasaran banyak dikenal sebagai Chelex-100 ini merupakan suspensi dari sebuah *chelating resin* yang dapat ditambahkan secara langsung ke dalam sampel atau bahan pemeriksaan seperti halnya darah, bercak darah, atau sperma (Walsh *et al.*, 1991). Hal ini mengingat bahwa *Chelex* terdiri dari *styrene divinylbenzene copolymer* yang berisi pasangan *ion-ion iminodiacetate* yang bertindak sebagai *chelating groups*, yang dapat berikatan dengan *ion-ion metal polyvalent* seperti halnya ion  $Mg^{2+}$  dan  $Ca^{2+}$ . Dengan diikatnya ion magnesium dari bahan pemeriksaan yang diambil DNANYa, maka enzim yang merusak DNA sebagaimana halnya *nuclease* akan mengalami inaktivasi, sehingga molekul DNA dapat terlindungi dan tidak sampai mengalami kerusakan yang berarti (Butler, 2005).

Hasil isolasi dengan metode Chelex-100 ini dilihat melalui ada tidaknya pita DNA yang terbentuk pada gel agarose pada gambar 6.





**Gambar 2. Hasil elektroforesis DNA metode (A2) Chelex-100; (B2) Chelex-100; (C2) Chelex-100; (D2) Chelex-100; (E2) Chelex-100; (F2) Chelex-100; (G2) Chelex-100; (H2) Chelex-100**

Dari gambar 2 di atas menunjukkan sebagian besar terbentuk pita DNA pada gel agarose dengan ketebalan pita yang sangat tipis. Hal ini sesuai dengan penelitian Sutrisno et al. (2013) yang meneliti mengidentifikasi *bite marks* dengan ekstraksi DNA metode Chelex dengan terbentuknya pita DNA yang tipis pada agarose serta konsentrasi rata-rata sebesar 52,61 ng/ $\mu$ l.

Hal ini berkaitan dengan proses ekstraksi menggunakan resin Chelex juga memiliki kelemahan, antara lain DNA dan RNA yang dihasilkan relatif sedikit, tahap pemanasan yang dilakukan selama proses ekstraksi dapat merusak struktur rantai ganda DNA (denaturasi) yang dihasilkan (Phillips *et.al.*, 2012).

Metode chelex ini sering digunakan pada sampel yang berupa darah pada kasus forensik. Berbagai keuntungan yang dapat diperoleh dari metode ekstraksi chelex antara lain prosesnya lebih cepat, tahapan yang dilakukan lebih sederhana sehingga resiko untuk terkontaminasi karena penggunaan banyak tabung dapat dihindari (Schiffner *et.al.*, 2005).

### C. Kemurnian DNA

Banyaknya radiasi ultraviolet yang diserap oleh larutan DNA berbanding lurus dengan banyaknya DNA dalam sampel FTA *card* yang diekstraksi. Penyerapan sinar ultraviolet oleh nukleotida secara maksimal dapat dicapai pada panjang gelombang A260 nm, sedangkan penyerapan sinar ultraviolet maksimal oleh protein dicapai pada panjang gelombang A280 nm (Tenriulo *et al.*, 2001).

Uji kuantitatif dilakukan untuk menguji tingkat kemurnian DNA yang telah diisolasi menggunakan nilai absorbansi pada spektrofotometer. Kemurnian DNA ditentukan oleh tingkat kontaminasi protein dalam larutan, kemurnian larutan tersebut dapat dilihat dengan membagi nilai A260 dengan A280. Hasil uji kuantitatif sampel DNA (tabel 2) berkisar antara 1,035 hingga 1,162 yang menunjukkan nilai di bawah rasio. Molekul DNA dikatakan murni jika rasio kedua nilai tersebut berkisar antara 1,8 hingga 2,0. Sedangkan jika rasio A260 dibagi dengan A280 lebih kecil dari 1,8 menurut Devereux dan Wilkinson (2004) menunjukkan adanya kontaminasi yang disebabkan oleh protein atau fenol pada hasil isolasi. Selain itu, jika rasio A260 dibagi dengan A280 lebih dari 2,0 ini dimungkinkan terkontaminasi oleh RNA (Khosravinia *et al.*, 2007).

**Tabel 1. Konsentrasi dan Kemurnian Hasil Isolasi DNA**

No	Sampel	A260	A280	A260/A 280	Konsentrasi DNA
1.	PureLink Genomic DNA kit + SDS	0,021	0,018	1,117	210
2.	PureLink Genomic DNA kit + SDS	0,019	0,016	1,162	190
3.	PureLink Genomic DNA kit + SDS	0,020	0,018	1,141	200

4.	PureLink Genomic DNA kit + SDS	0,021	0,018	1,144	210
5.	Chelex-100	0,124	0,115	1,082	1240
6.	Chelex-100	0,123	0,115	1,071	1230
7.	Chelex-100	0,095	0,092	1,035	950
8.	Chelex-100	0,076	0,071	1,076	760
9.	Chelex-100	0,079	0,076	1,037	790
10.	Chelex-100	0,065	0,062	1,045	650
11.	Chelex-100	0,100	0,094	1,067	1000
12.	Chelex-100	0,076	0,073	1,052	760

---

Tabel 2 menunjukkan konsentrasi DNA sampel FTA *card* hasil isolasi memiliki nilai yang bervariasi antara 190 sampai 1240 ng/ $\mu$ l. Hal ini disebabkan sampel FTA *card* yang diekstraksi memiliki pengotor. Hasil ini juga dibuktikan dengan adanya *smear* yang terbentuk pada hasil elektroforesis DNA, dimana *smear* yang muncul pada gel agarose menandakan adanya materi selain DNA yang ikut terisolasi (Anam, 2010).

Akan tetapi dalam penelitian Mustafa *et al.* (2016) yang meneliti konsentrasi dan kemurnian DNA genom nyamuk *Anopheles barbirostris* menggunakan metode *PureLink<sup>®</sup> Genomic DNA kits*, menyimpulkan konsentrasi dan kemurnian DNA *Anopheles barbirostris* rata-rata 1,9 yang menunjukkan sampel tidak terkontaminasi. Dan pada penelitian Sutrisno *et al.* (2013) yang mengidentifikasi *bite marks* dengan ekstraksi DNA metode Chelex menunjukkan kadar DNA yang cukup tinggi yakni dari sampel darah dengan angka rata-rata 2079 ng/ $\mu$ l sedangkan pada *bite marks* dengan angka rata-rata 52,61 ng/ $\mu$ l yang menunjukkan angka yang lebih rendah.

Beberapa hal yang sangat berperan dalam mempengaruhi konsentrasi dan kemurnian DNA yang dihasilkan adalah metode ekstraksi yang digunakan, rusaknya

DNA dan adanya zat pengotor/kontaminan seperti fenol atau protein lainnya (Kurniama *et al.*, 2017).

Beberapa hal yang memungkinkan dapat menyebabkan terjadinya kontaminasi dalam penelitian ini yaitu kesalahan teknik pengambilan supernatant yang tidak teliti dan hati-hati sehingga materi yang tidak diharapkan selain DNA ikut terambil serta proses digesti DNA yang mungkin tidak sempurna karena selama inkubasi sampel tersebut tidak digoyang sehingga pada saat pengambilan fenol sebagian protein tidak ikut terikat dan tetap berikatan dengan DNA dalam sampel (Ramlah, 2015).

### **UCAPAN TERIMA KASIH**

Ucapan terimakasih saya ucapkan kepada Ibu Imaniar Noor Faridah selaku dosen pembimbing, Bapak Endang Darmawan selaku dosen penguji 1. Terima kasih kepada almamaterku Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta.

### **DAFTAR PUSTAKA**

- Abdelwhab, E.M., Luschow, D., Harder, T.C., Hafez, H.M., 2011, The use of FTA<sup>(R)</sup> filter papers for diagnosis of avian influenza virus, *J. Virol, Methods* 174, 120-122.
- Aditya, K. and Widodo, 2014, Amplifikasi Enhancer Gen Renin C-5312T pada Pasien Hipertensi di Rumah Sakit Dr. Saiful Anwar Malang, *Jurnal Biotropika*, Vol.2 No.4
- Anam, Khairul, 2010, *Isolasi DNA Genom*, Bioteknologi Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Butler, J.M., 2005, Short tandem repeat analysis for human identity testing, *STR Typing current protocols in human genetic unit*, New York: Elsevier Academic Press, p.1-37.
- Fatchiyah, Arumingtyas, E. L., Widyarti, S., Rahayu, S., 2011, *Biologi Molekular, Prinsip Dasar Analisis*, Penerbit Erlangga, Jakarta.
- Hailemariam, Z., Ahmed, J.S., Clausen, P.H., Nijhof, A.M., 2016, A comparison of DNA extraction protocols from blood spotted on FTA cards for the detection of tick-borne pathogens by Reverse Line Blot hybridization, *Ticks and Tick-borne Disease*.
- Khosravinia, H., dan Ramesha, K.P., 2007, Influence of EDTA and magnesium on DNA extraction from blood samples and specificity of polymerase chain reaction, *African Journal of Biotechnology* Vol. 6 (3), pp. 184-187.
- Marwayana, O.N., 2015, Ekstraksi Asam Deoksiribonukleat (DNA) dari sampel jaringan otot, *Oseana*, Volume XL, No.2: 1-9.

- Mustafa, H., Rachmawati, I., Udin, Y., 2016, Pengukuran Konsentrasi dan Kemurnian DNA Genom Nyamuk *Anopheles barbirostris*, *Jurnal Vektor Penyakit*, Vol. 10 No. 1: 7-10.
- Phillips, K., McCallum, N., Welch, L., 2012, A Comparison of methods for forensic DNA extraction: Chelex-100 and the QIAGEN DNA investigation kit (manual and automated), *Forensic Science International: Genetics*, 6(2): 282-285.
- Promege, 2010, *Technical Manual Wizard Genomic DNA Purification Kit*, USA.
- Ramlah, 2015, Keragaman Genetik Plasma Nutfah Jagung Lokal Tanah Toraja Berbasis SSR (Simple Sequence Repeats), *Skripsi*, Fakultas Sains dan Teknologi UIN Alauddin, Makassar.
- Sambrook, J., and Russel, D.W., 1989. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* 3rd edition, New York: Laboratory Pr.
- Surzycki, S., 2000, *Basic techniques in molecular biology*, Germani : Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Sutrisno, I.K., Arundina, I., Sosiawan, A., 2013, Identifikasi bite marks dengan ekstraksi DNA metode Chelex-100, *Dental Journal* Vol. 46 No. 2: 107-112.
- Tenriulo, A., Suryati, E., Parenrengi, A., Rosmiat, 2001, Ekstraksi DNA rumput laut *kappaphycus alvarezii* dengan metode fenol kloroform, *Marina Chimica Acta* 2(2): 6-10.
- Walsh, P. S., Metzger, D. A., Higuchi, R., 1991, Chelexx 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material, *Biotechniques*, 10(4): 506-513.
- Weiner, D.E., Miskulin, D.C., 2010, Anemia Management in Chronic Kidney Disease: Bursting the Hemoglobin Bubble, *Annals of Internal Medicine*, Vol 153, No 1.