



Pengaruh Waktu Penyimpanan Sampel Serum Terhadap Kuantitas dan Kualitas DNA: Pengamatan Selama 1 Tahun

Tiara Mayang Pratiwi Lio^{*1}, Sanatang¹, Aldiana¹

¹D-IV Teknologi Laboratorium Medik, Universitas Mandala Waluya, Kota Kendari.

liotira@gmail.com; Sanatang@gmail.com; aldiana.astuti@mail.ugm.ac.id

*Corresponding author: liotira@gmail.com

Diterima : 19-01-2021 – Disetujui : 20-05-2021 – Dipublikasi: 30-05-2021

© 2021 Jurusan Biologi FMIPA Universitas Halu Oleo Kendari

ABSTRACT

Molecular diagnosis is a method of diagnosis that aims to understand the molecular mechanism of a disease in each individual patient (personalized medicine / dentistry) as well as the identification process in the forensic field. This method will be very beneficial in this modern world of health. One of the molecular identification techniques that can be used as a means is the DNA amplification technique using the PCR method. This technique is able to multiply the DNA strand of the sample so that it can be analyzed more clearly. Where in the process good DNA quality can be obtained from good samples too. This is a basic requirement that must be met in molecular studies, especially in DNA fingerprinting, whereas in field practice unexpected things often occur either in the sample collection process or the availability of chemicals which result in a delay in a DNA extraction process. While the long storage time can cause damage to blood cells including DNA due to natural degradation or by microorganisms (fungi and bacteria). Comparative study and the effect of storage of serum samples on DNA quality: Observation for 1 year was a descriptive analytic study to see whether there was an effect of storage at -4°C on DNA quality. This study used an analytic observational method with a cross-sectional approach. The research sample was blood serum. Genetic analysis is performed by isolating DNA from serum using routine procedures. Based on the research results, it was found that the Sig. DNA levels in 2019 and 2020 were 0.018 and the Sig. DNA purity in 2019 and 2020 was 0.00. This shows the effect of 1 year storage time on the quality of DNA from blood serum samples.

Keywords: Time, Storage, Quality, DNA, serum

ABSTRAK

Diagnosis molekuler merupakan metode yang digunakan untuk memahami mekanisme molekuler suatu penyakit pada setiap individu maupun proses identifikasi dalam bidang forensik. Metode ini akan sangat menguntungkan dalam dunia kesehatan modern ini. Salah satu teknik molekuler yang sering digunakan adalah teknik amplifikasi DNA dengan metode PCR. Teknik ini mampu melipatgandakan untai DNA sehingga dapat lebih jelas dianalisis. Hasil dari metode PCR dipengaruhi oleh kualitas dan kuantitas dari materi genetik dalam sampel, juga proses isolasi DNA yang dilakukan. Hal ini merupakan syarat dasar yang harus dipenuhi dalam studi molekuler, sedangkan dalam praktek lapangan sering terjadi hal-hal yang tidak terduga baik dalam proses pengumpulan sampel yang memerlukan waktu lama ataupun ketersediaan bahan kimia yang kurang berakibat terjadinya penundaan sebuah proses ekstraksi DNA. Lamanya waktu penyimpanan dapat menyebabkan DNA terdegradasi baik secara alami atau akibat mikroorganisme. Penelitian pengaruh waktu penyimpanan sampel serum terhadap kuantitas dan kualitas DNA : Pengamatan selama 1 tahun merupakan penelitian deskriptif analitik untuk melihat apakah ada pengaruh penyimpanan pada suhu 4°C terhadap kualitas DNA. Penelitian ini menggunakan metode observasional analitik dengan pendekatan *cross-sectional*. Sampel penelitian ini merupakan serum darah. Analisis genetik dilakukan dengan mengisolasi DNA dari serum menggunakan prosedur rutin. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh bahwa nilai Sig. kadar DNA tahun 2019 dan 2020 sebesar 0.018 dan nilai Sig. kemurnian DNA tahun 2019 dan 2020 sebarang 0.00. Hal ini menunjukkan adanya pengaruh waktu penyimpanan selama 1 tahun terhadap menurunnya kuantitas dan kualitas DNA dari sampel serum darah.

Kata Kunci: Waktu, Penyimpanan, Kualitas, DNA, serum

PENDAHULUAN

DNA adalah materi genetik dalam tubuh makhluk hidup yang berperan dalam pengaturan aktivitas biologisnya. Molekul DNA dalam suatu sel dapat diekstraksi atau diisolasi dari berbagai macam sumber seperti organ, jaringan maupun darah. Salah satu sumber DNA yang sering digunakan sebagai sampel dalam penelitian dibidang kedokteran maupun forensik adalah darah, baik dalam bentuk *whole blood* maupun serum. Adapun tujuan dilakukannya ekstraksi atau isolasi adalah untuk keperluan seperti amplifikasi dan analisis DNA. Isolasi DNA dilakukan dengan tujuan untuk memisahkan DNA dari bahan lain seperti protein, lemak, dan karbohidrat. Prinsip utama dalam isolasi DNA ada tiga yakni penghancuran (lisis), ekstraksi atau pemisahan DNA dari bahan padat seperti selulosa dan protein, serta pemurnian DNA (Corkill dan Rapley, 2008; Dolphin, 2008).

Keberhasilan teknik molekuler dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti jenis sampel, jumlah sampel. Proses pengerjaan, kemampuan sumber daya manusia, serta fasilitas yang ada. Selain faktor-faktor di atas, kerap kali terdapat faktor-faktor penghambat yang menyebabkan terjadinya penundaan proses ekstraksi atau isolasi DNA seperti proses pengumpulan atau pencarian sampel, lokasi pengambilan yang jauh, harga bahan kimia yang sangat mahal serta pengadaannya yang memakan waktu sangat lama, karena pada umumnya bahan kimia yang diperlukan adalah produk impor (Syafaruddin et al., 2011). Kualitas DNA yang baik yang diperoleh dari hasil ekstraksi merupakan syarat dasar yang harus dipenuhi dalam studi molekuler, terutama dalam penandaan sidik jari DNA, sedangkan pengaruh lama waktu penyimpanan dapat menyebabkan kerusakan sel-sel darah termasuk DNA

akibat terdegradasi secara alami atau oleh mikroorganisme (jamur dan bakteri) (Liu et al., 2007).

DNA hasil isolasi selanjutnya dilakukan cek kuantitas dan kualitas untuk melihat konsentrasi dan kemurniannya dengan menggunakan spektrofotometer dan elektroforesis gel. Uji kualitas DNA dilakukan dengan horizontal elektroforesis, pengecekan hasil isolasi DNA pada gel agarose. Pengukuran konsentrasi DNA dengan spektrofotometer dilakukan pada panjang gelombang 260 nm, sedangkan kemurniaan DNA dari kontaminasi diukur dengan perbandingan A260 nm dengan A280 nm. DNA dibaca pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 260nm dan protein dibaca pada panjang gelombang 280. Batas kemurnian yang biasa dipakai dalam analisis molekuler pada rasio A260/A280 adalah 1,8-2,0 (Sambrook et al., 2001).

Pengukuran kualitas dan kuantitas DNA diperlukan untuk mengetahui kualitas DNA, sehingga dapat ditentukan pengenceran yang diperlukan guna mendapatkan konsentrasi yang seragam untuk digunakan dalam analisis PCR. Pengenceran DNA yaitu hasil ekstraksi DNA yang didapatkan dicampur aquabides. Perbandingan antara DNA dan aquabides disesuaikan dengan besarnya pengenceran (Muzuni et al., 2014)

Diagnosis molekuler merupakan metode diagnosis yang bertujuan untuk memahami mekanisme molekuler suatu penyakit pada setiap individu pasien (*personalized medicine/dentistry*). Metode ini akan sangat menguntungkan dalam peningkatan keamanan penghantaran obat dan keefektivan terapi pada berbagai penyakit di masa mendatang (Jain, 2009). Salah satu teknik identifikasi molekuler yang dapat digunakan sebagai sarana diagnosis penyakit adalah teknik amplifikasi DNA. Teknik ini mampu melipatgandakan untai DNA sampel

sehingga dapat dianalisis dengan lebih jelas. (Hoff, 2006).

Polymerase Chain Reaction merupakan suatu reaksi *in-vitro* untuk menggandakan jumlah molekul DNA pada target tertentu dengan cara mensintesis molekul DNA baru yang berkomplemen dengan molekul DNA target dengan bantuan enzim dan oligonukleotida sebagai primer dalam suatu thermocycler. Panjang target DNA berkisar antara puluhan sampai ribuan nukleotida yang posisinya diapit sepasang primer (Muladno, 2010).

PCR memiliki beberapa keunggulan, diantaranya dapat memperbanyak DNA pada bagian yang spesifik sesuai dengan yang diharapkan, memiliki sensitivitas tinggi, mampu memberikan hasil dalam waktu singkat, mendeteksi sampel yang terkontaminasi maupun menyeleksi sampel negatif, dapat mengidentifikasi organisme secara mendetail. Namun, PCR memiliki beberapa kelemahan, diantaranya DNA yang bukan merupakan target dapat terdeteksi, seperti DNA sel bakteri yang mati. (Prayoga dan Wardani, 2015).

Fokus penelitian ini adalah ingin melihat pengaruh waktu penyimpanan serum selama 1 tahun terhadap kuantitas dan kualitas DNA yang diukur dengan spektrofotometer dan visualisasi menggunakan elektroforesis. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi masukan dalam melakukan analisis molekuler terutama berkaitan dengan waktu penyimpanan.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan pada bulan April 2019 - Juni 2020 di Laboratorium Molekuler Program Studi D-IV Teknologi Laboratorium Medis STIKES Mandala Waluya Kendari dengan menggunakan metode observasional analitik. Penelitian ini menggunakan darah yang diambil dari vena yang terdapat di lengan. Darah tersebut kemudian dimasukkan ke dalam

tabung yang mengandung EDTA kemudian disentrifuse untuk memisahkan sel darah dan serum. Setelah proses pemisahan serum, masing-masing sampel kemudian dipisahkan ke dalam dua buah tabung. Tabung pertama kemudian diproses ekstraksi/isolasi DNA sedangkan tabung lainnya disimpan dalam lemari pendingin dengan suhu -4°C untuk di ekstraksi/isolasi 1 tahun kemudian.

Isolasi DNA dari sampel serum menggunakan kit isolasi dan purifikasi DNA (*The DNA Extraction*) dari Geneaid. Pada penelitian ini menggunakan primer gen glukokinase exon 7. Penentuan genotip GCK yaitu dengan cara fragmen DNA di amplifikasi dengan forward primer 5'-AGTGCAGCTCTCGCTGACAG-3' dan 5'-CATCTGCCGCTGCACCAGAG-3' sebagai primer reverse dengan ukuran panjang produk 285 pb (Stoffel *et al.*, 1992 ; Kanthimathi *et al.*, 2014).

Pengukuran konsentrasi DNA dengan spektrofotometer dilakukan pada panjang gelombang 260 nm, sedangkan kemurniaan DNA dari kontaminasi diukur dengan perbandingan A260 nm dengan A280 nm. DNA dibaca pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 260nm dan protein dibaca pada panjang gelombang 280. Batas kemurnian yang biasa dipakai dalam analisis molekuler pada rasio A260/A280 adalah 1,8-2,0 (Sambrook *et al.*, 2001).

Campuran reaksi PCR (volume akhir 25 μL) terdiri dari: 2 μL primer mix (1 μL primer forward dan 1 μL primer reverse) ke dalam microtube PCR 0,2 ml ditambahkan 15 μL PCR master mix (1x buffer PCR, 150 nM dNTP, dan 0,5 U Taq DNA polymerase), kemudian ditambahkan 3 μL Nuclease Free Water dan 5 μL DNA template. Kondisi temperatur reaksi PCR gen GCK adalah sebagai berikut: Denaturasi awal dilakukan pada suhu 94°C selama 5 menit yang diikuti oleh 35 siklus, denaturasi pada suhu 94°C selama 1 menit, *annealing* pada suhu 60°C selama

1menit, *extension* pada suhu 72°C selama 2menit, dan *final extension* pada suhu 72°C selama 10 menit (Stoffel *et al.*, 1992 ; Kanthimathi *et al.*, 2014). Kemudian dielektroforesis menggunakan gel agarose 1,5% dengan menggunakan jumlah DNA hasil PCR sebanyak 5 µL.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Penelitian

Hasil pengukuran Kuantitas dan Kualitas DNA

Hasil pengukuran kuantitas atau kadar dan kualitas atau kemurnian DNA menunjukkan bahwa penundaan waktu perlakuan yang diberikan pada serum menunjukkan penurunan kuantitas DNA dan rasio absorbansi $\lambda 260/ \lambda 280$ yang di tunjukkan pada Tabel 1. berikut ini:

Tabel 1. Uji Kuantitas dan Kualitas DNA

No.	Sampel	Kadar DNA (µg/mL) Sebelum Penyimpanan 1 tahun	Kadar DNA (µg/mL) Setelah Penyimpanan 1 tahun	Kemurnian DNA Sebelum Penyimpanan 1 tahun	Kemurnian DNA Setelah Penyimpanan 1 tahun
1	D1	12200	12185	1.076	1.101
2	D2	12195	12150	1.071	1.107
3	D3	12380	12360	1.076	1.111
4	D4	12295	12295	1.074	1.106
5	D5	12255	12205	1.076	1.096
6	D6	12480	12400	1.066	1.111
7	D7	12230	12195	1.069	1.105
8	D8	12495	12470	1.068	1.109

Hasil Analisis Data Kuantitatif

Data dapat diketahui jika telah terdistribusi atau tersebar secara normal atau tidak secara analitis maka diperlukan uji normalitas. Uji normalitas dapat dilakukan dengan metode ShapiroWilk karena jumlah sampel < 50. Jika uji normalitas data yang dihasilkan berdistribusi normal, maka dilanjutkan ke uji parametrik yaitu Uji Paired Sample T Test untuk membandingkan selisih dua mean dari dua sampel yang berpasangan. Jika uji normalitas data menunjukkan distribusi tidak normal maka dilanjutkan dengan uji wilcoxon yang bertujuan untuk mengetahui apakah keduanya mempunyai hubungan dari dua sampel yang berpasangan.

Tabel 2. Hasil uji normalitas

Data	Hasil Uji Normalitas Shapiro Wilk
Kadar DNA dari serum sebelum penyimpanan	0.000
Kadar DNA dari serum dengan penyimpanan 1 tahun	0.366
Kemurniaan DNA dari serum sebelum penyimpanan	0.161
Kemurniaan DNA dari serum dengan penyimpanan 1 tahun	0.384

Tabel 2. Hasil Uji Normalitas menunjukkan bahwa kadar DNA dari serum sebelum penyimpanan yang diuji pada tahun 2019 memiliki nilai p 0.000 atau <0.05,

sehingga distribusi data dinyatakan tidak normal. Sedangkan uji normalitas kadar DNA yang diuji dari serum yang disimpan selama 1 tahun, kemurnian DNA dari serum sebelum penyimpanan dan kemurnian DNA dari serum dengan penyimpanan 1 tahun menunjukkan nilai $p > 0,05$, sehingga distribusi data dinyatakan normal. Berdasarkan data tersebut maka uji perbedaan antara kadar DNA dari serum sebelum dan setelah penyimpanan selama 1 tahun akan dilanjutkan dengan uji Wilcoxon sedangkan uji perbedaan antara kemurnian DNA dari serum sebelum dan setelah penyimpanan selama 1 tahun akan dilanjutkan dengan uji Paired Sampel Test. Hasil uji perbedaan kadar dan kemurnian DNA dari serum sebelum dan setelah penyimpanan 1 tahun di tunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Uji Perbedaan

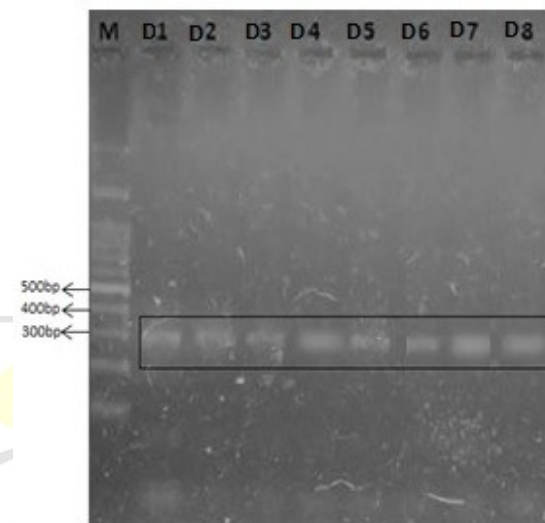
Data	Nilai Signifikansi
Kadar DNA dari serum sebelum dan setelah penyimpanan 1 tahun	0.018
Kemurniaan DNA dari serum sebelum dan setelah penyimpanan 1 tahun	0.000

Hasil Elektroforesis

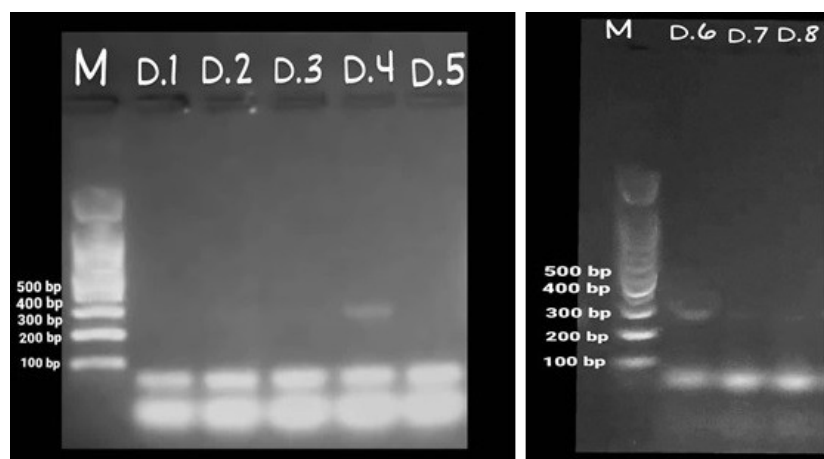
Hasil amplifikasi DNA akan dinilai secara kualitatif melalui metode

elektroforesis gel, berupa visualisasi pita pada gel agarose sesuai dengan panjang target yang diinginkan yaitu 285 bp. Hasil pemeriksaan dapat dilihat pada Gambar 1. dan Gambar 2.

Gambar 1. Menunjukkan bahwa dari sampel serum yang diisolasi sebelum penyimpanan menunjukkan kedelapan pita masih tampak jelas. **Gambar 2.** Yang merupakan visualisasi hasil elektroforesis dari sampel yang diisolasi setelah penyimpanan selama 1 tahun menunjukkan hanya 4 pita saja.



Gambar 1. Visualisasi hasil Elektroforesis dari sampel yang diisolasi sebelum penyimpanan 1 tahun. M=Marker dan D1-D8 = sampel



Gambar 2. Visualisasi hasil Elektroforesis dari sampel yang diisolasi setelah penyimpanan 1 tahun. M=Marker dan D1-D8 = sampel

Pembahasan

DNA merupakan materi genetik dalam tubuh makhluk hidup yang dapat diekstraksi keluar dengan menggunakan beberapa metode isolasi/ ekstraksi DNA. Metode-metode tersebut tergantung pada jenis sampel yang digunakan. Proses isolasi dan purifikasi DNA memiliki beberapa faktor penentu diantaranya adalah: komposisi saat penambahan larutan buffer, penghomogenan sampel, serta penghilangan enzim-enzim penghambat (Syafaruddin dan Santoso, 2011). Tujuan dari isolasi DNA adalah memperoleh DNA murni yang bebas dari protein dan kandungan lainnya dari sebuah sampel.

Keberhasilan analisis molekuler dipengaruhi oleh jumlah atau kuantitas dan kemurnian sampel (Pharmawati, 2009). Kuantitas DNA dalam sampel yang cukup diperlukan untuk proses amplifikasi agar mendapatkan mencapai DNA yang cukup untuk divisualisasikan dengan metode elektroforesis. Kualitas kemurnian DNA yang baik akan meminimalisir bahan lain yang dapat mempengaruhi proses amplifikasi DNA. Lamanya waktu penyimpanan merupakan salah satu faktor yang dapat menyebabkan kerusakan sel-sel darah juga DNA. Kerusakan ini dapat terjadi karena adanya mikroorganisme seperti jamur dan bakteri ataupun karena sebab alami menyebabkan terjadinya degradasi DNA (Liu *et al.*, 2007).

Hasil uji statistik Wilcoxon untuk mengetahui perbedaan antara kadar DNA yang diisolasi dari serum sebelum dan sesudah penyimpanan selama 1 tahun menunjukkan nilai signifikansi 0.018. Hasil uji perbedaan tingkat kemurniaan DNA dari serum sebelum dan setelah penyimpanan 1 tahun menunjukkan nilai signifikansi 0.000. Nilai signifikan tersebut berarti bahwa ada perbedaan antara kadar dan kemurniaan DNA yang diisolasi dari serum sebelum dan setelah penyimpanan selama

1 tahun dalam lemari pendingin dengan suhu -4°C . Berdasarkan perbedaan tersebut dapat disimpulkan pula bahwa ada pengaruh antara waktu penyimpanan serum terhadap kuantitas dan kualitas DNA. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Putri, 2015 yang menyatakan bahwa akibat penyimpanan dalam kurun waktu berbeda (satu, dua, tiga, dan empat bulan) pada besi dan kayu, menyebabkan DNA mengalami penurunan kuantitas DNA yang sejalan dengan lama waktu penyimpanan. Hasil yang sama juga ditunjukkan oleh penelitian Putri, 2016 yang menunjukkan bahwa akibat paparan tanah atau air laut pada jaringan otot psoas jenazah selama 1, 7 hingga 20 hari terjadi penurunan pada kualitas dan kuantitas DNA secara signifikan meski masih dapat diekstraksi.

Terjadinya penurunan kadar dan kemurnian DNA akibat waktu penyimpanan dapat terjadi karena penyimpanan mengakibatkan kerusakan sel darah juga DNA sebagai akibat degradasi baik secara alami atau karena mikroorganisme (Liu *et al.*, 2007). Selain itu, proses pengerjaan juga dapat mengakibatkan degradasi DNA, seperti pemipetan sampel yang berulang-ulang, meletakkan sampel pada suhu kamar dalam waktu cukup lama, pembekuan dan pengenceran berulang kali, serta kontaminasi dapat mengakibatkan DNA terdegradasi. (Altshuler, 2006; Muzuni *et al.*, 2014).

Kuantitas dan kualitas DNA adalah faktor penting dalam metode molekuler sebab akan sangat mempengaruhi proses amplifikasi. Rendahnya kuantitas DNA target dalam sampel dapat menyebabkan kemungkinan tidak terjadinya amplifikasi, sedangkan jika terlalu banyak maka kemungkinan akan didapatkan lebih DNA yang bukan merupakan DNA target (Yuwono, 2006; Kennedy, 2011). Jenis metode molekuler yang digunakan berpengaruh terhadap

jumlah DNA yang dibutuhkan. Dalam metode PCR dibutuhkan sekitar 5 ug oligonukleotida DNA *template* untuk sekitar 1 mM reaksi dalam volume 50-100 ul (Yusuf, 2010). Jumlah kadar DNA yang dibutuhkan dalam analisis DNA forensik dengan pemeriksaan *Short Tandem Repeat* (STR) hanya membutuhkan konsentrasi DNA minimal antara 1-25 ng (Kusuma dan Yudianto, 2010). Akan tetapi penurunan kadar DNA hingga 1 ng dapat berpengaruh pada penurunan kemampuan deteksi DNA hingga 95% (Sosiawan, 2007). Selain kuantitas DNA dari sampel, juga dibutuhkan kualitas DNA yang baik yaitu tidak dalam kondisi terkontaminasi dan terdegradasi parah sebab dapat mengakibatkan primer tidak dapat menempel pada DNA target yang akan digandakan (Kusuma dan Yudianto, 2010).

Hasil visualisasi DNA dengan elektroforesis gel agarose juga mengalami pengurangan. Hasil elektroforesis dari DNA yang diisolasi sebelum penyimpanan selama 1 tahun yang ditunjukkan oleh **Gambar 1**. menunjukkan adanya pita DNA pada panjang 285bp pada ke-8 sampel. Sedangkan pada hasil elektroforesis dari DNA yang diisolasi setelah penyimpanan selama 1 tahun yang ditunjukkan oleh **Gambar 2**. hanya 4 sampel yang menunjukkan pita DNA. Hal ini dapat disebabkan oleh terjadinya kegagalan deteksi DNA pada pemeriksaan dengan metode PCR yang disebabkan oleh DNA telah mengalami degradasi selama waktu penyimpanan 1 tahun. Mengenai kemungkinan penyebab kegagalan deteksi DNA antara lain: jumlah DNA target yang minimal, degradasi DNA sehingga primer tidak dapat menempel dan kurangnya DNA polymerase, siklus serta inhibitor PCR.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian maka dapat disimpulkan bahwa waktu penyimpanan sampel serum selama 1

tahun dapat menyebabkan penurunan pada kualitas dan kuantitas DNA.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kepada Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat, Direktorat Jendral Riset dan Pengembangan Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi yang telah memberikan dana hibah Penelitian Dosen Pemula ini serta kepada LPPM Universitas Mandala Waluya Kendari dan Prodi D-IV Teknologi Laboratorium Medis Universitas Mandala Waluya Kendari yang telah memfasilitasi pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Altshuler, Michael L. 2006. PCR Troubleshooting: The Essential Guide. Caister Academic Press
- Corkill G, Rapley R. 2008. The Manipulation of Nucleic Acid: Basic Tools & Techniques in Molecular Biomethods Handbook. Ed ke-2. New York (US): Humana Press.
- Dolphin, Warren D. 2008. Biological Investigations. New York: The McGraw-Hill Companies, Inc.
- Hoff M. DNA amplification and detection made simple (relatively). PLoS Biol. 2006;4(7):e222.
- Indah N, Kusuma Soekry E, Sosiawan A. 2012. Analisis Pengaruh Waktu dan Pencucian Deterjen terhadap DNA Bercak Cairan Semen pada Lokus FGA dengan Metode STR-PCR. Jurnal Biosians Pascasarjana Vol 4 No.2
- Kanthimathi S, Jahnavi S, Balamurugan K, Ranjani H, Sonya J, Goswami S, Chowdhury S, Mohan V, Radha V., 2014. Glucokinase gene mutations (MODY 2) in Asian Indians. *Diabetes Technology and Therapeutics* ; 16:180–5.

- Kennedy, N. 2011. PCR Troubleshooting and Optimization. Caister Academic Press, USA
- Kusuma, S. E., dan Yudianto, A. 2010. Forensik Molekuler, dalam Buku Ajar Ilmu Kedokteran Forensik dan Medikolegal, edisi keenam, Ed. Hariadi A, Hoediyanto. Departemen Ilmu Kedokteran Forensik dan Medikolegal Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Surabaya. hal: 333-335 dan 359-370.
- Liu, Q. P., G. Sulzenbacher, H. Yuan, E. P. Bennett, G. Pietz, K. Saunders, J. Spence, E. Nudelman, S. B. Levery, T. White, J.M. Neveu, W. S. Lane, Y. Bourne, M. L. Olsson, B. Henrissat and H. Clausen. 2007. Bacterial Glycosidases for The Production of Universal Red Blood Cells. *Nat. Biotech.* 25:454-464.
- Muladno. 2010. Teknologi Rekayasa Genetika. Bogor (ID): IPB Press.
- Muzuni, Adi DA, Syarif S. 2014. Karakterisasi Fragmen Gen 18s Rrna Pokea (*Batisa violacea celebensis* von Martens, 1897) di Sungai Pohara Kecamatan Sampara Kabupaten Konawe. *Jurnal Biowallacea*. 1(1): 25-38.
- Pharmawati, M. 2009. Optimalisasi ekstraksi DNA dan PCR-RAPD pada *Grevillea* spp. (Proteaceae). *Jurnal Biologi XIII*, 1: 12-16
- Putri, Ni Putu P E dan Junitha, I K. 2015. Kualitas dan Kuantitas DNA Darah Kering pada Besi dan Kayu Yang Disimpan Dalam Kurun Waktu Berbeda. *JURNAL BIOLOGI* Volume 19 No.1 . Hal 21-24
- Putri, Ni Putu P E dan Yudianto, Ahmad. 2016. Pengaruh Tanah dan Air Laut Terhadap Kualitas DNA Dari Otot Psoas Jenazah Melalui Metode STR. *Jurnal Biosains Pascasarjana* Vol. 18 No.3. Hal 203-219.
- Prayoga, W., & Wardani, A.K. 2015. Polymerase Chain Reaction Untuk Deteksi *Salmonella* sp, Kajian Pustaka, *Jurnal Pangandan Agroindustri*, 3(2), 438-488.
- Sambrook, J. and D. W. Russell. 2001. *Molecular Cloning a Laboratory Manual 3 Edition*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.
- Stoffel, M., P. Froguel, J. Takeda, H. Zouali, N. Vionnet, S. Nishi, *et al.*, 1992. Human glucokinase gene: isolation, characterization, and identification of two missense mutations linked to early-onset non-insulin-dependent (type 2) diabetes mellitus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America Journal*. Volume 89:7698-7702.
- Sosiawan A, 2007. Analisis Efek Paparan Panas Suhu Ekstrem Tinggi Terhadap DNA Yang Berasal Dari Tulang dan Gigi. Disertasi Program Pascasarjana Universitas Airlangga.
- Syafaruddin, Randrianni E, dan Santoso T J. 2011. Efektivitas dan Efisiensi Teknik Isolasi dan Purifikasi DNA Pada Jambu Mete. *Buletin RISTRI* Vol 2 (2) : 151-160
- Yudianto A, 2007. Efektivitas tes asam fosfatase dan tes zink pada pemeriksaan bercak semen manusia sebagai identitas primer. Departemen Ilmu Kedokteran Forensik dan Medikolegal Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Surabaya.
- Yusuf, Zuhriana K. 2010. POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR). *Saintek* Vol 5, No.6
- Yuwono, T. 2006. Teori dan Aplikasi Polymerase Chain Reaction. ANDI OFFSET, Yogyakarta.