

Uji Banding Metode Isolasi DNA Sampel *FTA Card* menggunakan Kit *Wizard® Genomic DNA Purification*, *PureLink® Genomic DNA*, dan *Chelex-100*

(Comparison of DNA Isolation Methods using *FTA Card*: *Wizard® Kit Genomic DNA Purification*, *PureLink® Genomic DNA*, and *Chelex-100*)

DYAH ARYANI PERWITASARI^{1*}, IMANIAR NOOR FARIDAH¹, YENI ALFIANA RATNASARI¹,
KANIA AGUSTINA¹, IKRIMAH NISA UTAMI², RITA MALIZA³

¹Fakultas Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta

²RSUD Dr Moewardi, Solo

³Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi Terapan, Universitas Ahmad Dahlan
Yogyakarta

Diterima 17 Maret 2020, Disetujui 5 Oktober 2020

Abstrak: *FTA Card* merupakan cara mudah untuk pengumpulan, pengiriman, dan penyimpanan darah. Volume darah yang dibutuhkan untuk *FTA Card* lebih sedikit jika dibandingkan sampel darah yang diambil melalui vena. Tujuan dari penelitian ini adalah menentukan metode yang tepat digunakan untuk mengisolasi DNA sampel darah pada *FTA Card* menggunakan kit *Wizard® Genomic DNA Purification*, *PureLink® Genomic DNA Kit* dan metode *Chelex-100*. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dan data dianalisis dengan uji kualitatif dan kuantitatif. Sampel yang digunakan sebanyak 16 sampel dari darah manusia yang diambil menggunakan *pen lancet* kemudian ditotolkan diatas *FTA Card*, pengambilan sampel dilakukan dengan teknik *accidental sampling*. Hasil analisa kualitatif elektroforesis memperlihatkan metode isolasi kit *PureLink® Genomic DNA* yang divariasikan dengan penambahan SDS 10% terdapat pita DNA yang tipis dan *smear* pada gel agarose. Selanjutnya metode *Chelex-100* memperlihatkan adanya pita DNA yang jelas. Data kuantitatif yaitu kemurnian dan konsentrasi DNA yang diperoleh bervariasi antara 1-1,1 dengan konsentrasi antara 190-950 ng/μL. Kesimpulan dari studi ini adalah tingkat kemurnian isolasi DNA dengan menggunakan metode kit *PureLink® Genomic DNA* dengan penambahan SDS 10% dan metode *Chelex-100* masih terdapat kontaminasi, dengan nilai kemurnian yang lebih kecil dari 1,8 dan konsentrasi DNA yang masih rendah untuk dijadikan DNA templat analisis molekuler selanjutnya.

Kata kunci: DNA, *FTA Card*, metode *Chelex-100*, metode kit *PureLink*, *purity DNA*.

Abstract: *FTA Cards* are an easy way to collect blood samples, deliveries, and stores. The total volume of blood samples is less is needed when compared to the blood samples taken through a vein (venipuncture). The purpose of this research is a method that can be applied to isolate DNA samples from *FTA Cards* using the *Wizard® Genomic DNA Purification Kit* (Promega), *PureLink® Genomic DNA Kits*, and *Chelex-100*. This research was a type of experimental research, and data analysis was showed in qualitative and quantitative descriptively. The samples used were 16 samples of human blood taken using a lancet and then placed on the *FTA Card*, sampling was done by accidental sampling technique. The variations of the *PureLink® Genomic DNA kits* method with the addition of SDS 10% showed thin and smear DNA bands on agarose gels. Furthermore, the *Chelex-100* method showed a clear DNA band. The purity data obtained varied between 1 to 1.1 and concentrations between 190 to 950 ng/μl. The conclusion of this study is DNA kits method with the addition of 10% SDS and the *Chelex-100* method still have impurities, with the purity value of DNA was less than 1.8 and a low concentration to be used as a DNA template for further molecular analysis.

Keywords: DNA, *FTA Card*, *Chelex-100* method, *PureLink* kit method, *purity DNA*.

*Penulis korespondensi
e-mail: dyah.perwitasari@pharm.uad.ac.id

PENDAHULUAN

ANALISIS molekular memiliki keakuratan lebih tinggi dan spesifik dalam diagnosis penyakit dibandingkan dengan analisis morfologi dan fisiologi pasien. Tahap isolasi DNA 4 sampel *blood spot* meliputi tahap *lysis cell*, *binding DNA*, *washing DNA*, dan *elution DNA*. Sampel yang dapat dianalisis secara molekular antara lain adalah DNA dari dalam darah. Darah dapat diambil dari pasien dalam bentuk *whole-blood* maupun *dried blood spot* yang selanjutnya akan diisolasi DNA untuk analisis secara molekular. Penyimpanan sampel darah menggunakan tabung biasa disebut juga dengan metode konvensional yang memiliki salah satu keunggulan yaitu tabung mudah didapat sehingga dapat dilakukan oleh siapa saja⁽¹⁾. Kekurangan yang dimiliki oleh metode konvensional salah satunya yaitu proses penyimpanan yang harus disimpan pada *freezer* suhu -20°C . Metode ini susah dilakukan jika pengambilan sampel dari daerah-daerah terpencil yang tidak memiliki akses listrik dan tempat penyimpanan suhu yang minimal seperti lemari pendingin.

Metode penyimpanan kering, yaitu cukup meneteskan beberapa tetes spesimen ke atas permukaan *Flinders Technology Associates (FTA) Card*⁽¹⁾. *FTA Card* adalah membran selulosa berbahan dasar katun yang berisi senyawa *chaotropic* sehingga mampu menginaktivasi mikro-organisme, melisis materi seluler, dan memfiksasi DNA dan/atau RNA dalam serat matriks. *FTA Card* telah digunakan dalam berbagai aplikasi biologi molekular dan juga telah terbukti untuk menyimpan DNA⁽²⁾. Patel *et al* (2014) melaporkan bahwa DNA yang diisolasi dari sampel forensik *FTA Card* memiliki kualitas yang rendah dikarenakan teknik penyimpanan sampel tidak disimpan dengan baik menggunakan antikoagulan⁽³⁾, selain itu sampel juga dapat mengalami proses pembusukan akibat prosedur forensik yang dilakukan sebelumnya.

Rendahnya sensitifitas hasil PCR dari DNA sampel *dried blood spot* merupakan akibat dari rendahnya kemurnian dan konsentrasi isolat DNA. Pengukuran absorbansi DNA yang diperoleh pada panjang gelombang 260 dan 280 nm dapat memberikan validasi kemurnian sampel asam nukleat dengan nilai 1,8 untuk DNA yang mengindikasikan sampel murni. Nilai yang rendah akan menunjukkan adanya kontaminan lain atau terdapatnya protein (4). Hasil isolasi DNA dari sampel *FTA Card* masih memiliki kualitas yang rendah untuk dilakukan analisis molekular lanjutan. Rendahnya kualitas isolat DNA dapat terjadi akibat metode isolasi yang digunakan

kurang efektif sehingga perlunya optimalisasi dan komperisasi metode isolasi DNA dari sampel *FTA Card*. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh metode isolasi DNA sampel *FTA Card* dengan yang optimal dan efektif dengan menggunakan beberapa metode yaitu *Wizard® Genomic DNA Purification*, *PureLink® Genomic DNA Kits* dan *Chelex-100 Saponin*. Pentingnya penelitian ini dilakukan adalah agar diperoleh metode isolasi DNA yang tepat, efektif, dan hasil maksimal, dengan indeks kemurnian 1,8 pada panjang gelombang 260 dan 280 nm dan tingginya konsentrasi DNA yang didapatkan. Kedua parameter kuantitatif ini menjadi parameter standar untuk menentukan kemurnian DNA yang diperoleh⁽⁴⁾.

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah darah manusia sehat, *FTA Card* jenis Whatman WB120210 *FTA Micro Card 1-Sample Area*, *Wizard® Genomic DNA Purification*, *PureLink® Genomic DNA kits*, Saponin 1%, *Chelex-100 5%*, etanol 96-100%, etanol 70%, *loading dye*, *gel red*, aquabides, agarose 1%, TAE 0,5x.

Alat. Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sentrifugasi, mikropipet, tips, elektroforesis, vortex, *magnetic stirrer*, transilluminator, *pen lancet*, elektroforesis, *waterbath*, *microcentrifuge tube*, mikropipet dan tabung eppendorf.

METODE. Penelitian ini merupakan penelitian non eksperimental, sampel yang digunakan sebanyak 16 sampel dari darah manusia yang diambil menggunakan *pen lancet* kemudian ditotolkan diatas *FTA Card*, pengambilan sampel dilakukan dengan teknik *accidental sampling*.

Persiapan Sampel *FTA Card*. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini berupa darah manusia sehat, yang diperoleh dari darah tepi. Pengambilan sampel menggunakan *pen lancet* yang kemudian diletakkan diatas permukaan *FTA Card*. Sampel kemudian didiamkan selama 24 jam pada suhu ruang untuk diisolasi.

Isolasi DNA. Kit *Wizard® Genomic DNA Purification*. Pada metode ini mengikuti protokol kerja isolasi DNA menggunakan kit *Wizard® Genomic DNA Purification* (Promega) untuk isolasi sampel darah (*Whole blood*) volume 300 μL . *FTA Card* dipotong kecil-kecil, ukuran 1-3 mm. Pada tahapan lisis sampel dioptimalisasi dengan menambahkan suhu inkubasi selama satu malam pada suhu 55°C setelah penambahan *cell lysis solution* dan dilanjutkan dengan ekstraksi, purifikasi, dan presipitasi sesuai dengan prosedur kerja *Wizard® Genomic DNA Purification*.

PureLink® Genomic DNA Kit. Pada metode ini mengikuti protokol *PureLink Genomic DNA Kits* untuk isolasi DNA dari *Blood Spots*. Potongan *FTA Card* dalam *sterile microcentrifuge tube* ditambahkan 180 µL *PureLink Genomic Digestion Buffer* dan 20 µL *Proteinase K*, selanjutnya divortex dan diinkubasi pada suhu 60°C selama 60 menit. Larutan disentrifugasi dengan kecepatan 15000 rpm pada suhu 25°C selama 3 menit. Filtrat dipindahkan dan ditambahkan 20 µL *RNase*, vortex, dan inkubasi pada suhu 37°C selama 2 menit. Tambahkan 200 µL *PureLink Genomic Lysis/Binding Buffer*, vortex kemudian tambahkan 200 µL etanol 96-100% dan vortex. Selanjutnya dilakukan proses *Binding DNA* dengan memasukkan filtrat ke kolom *PureLink Spin Column*, sentrifugasi dengan kecepatan 10000 x g pada suhu 25°C selama 1 menit. Tahap berikutnya adalah *Washing DNA* dengan menambahkan 500 µL *Wash Buffer1* dilanjutkan dengan tahap *Wash Buffer2* ke *column*. Pada tahap akhir yaitu proses *Eluting DNA* 50 µL *PureLink Genomic Elution Buffer* ditambahkan ke *column* dan didiamkan pada suhu kamar selama 2 menit, kemudian sentrifugasi dengan kecepatan 18000 x g selama 1 menit. DNA yang didapatkan disimpan di suhu -20°C.

Purelink kit dengan penambahan SDS 10%. Pada metode ini mengikuti protokol *PureLink Genomic DNA Kits* untuk isolasi DNA dari *Blood Spots* tetapi dilakukan variasi pada tahap awal dengan menambahkan 50 µL SDS 10% dan diinkubasi 37°C selama satu jam pada sampel *FTA Card* yang sudah dipotong-potong kecil. kemudian dilanjutkan ke protokol *PureLink Genomic DNA Kits* untuk isolasi DNA sampel *Blood Spots*. Tahap lisis sel, *Binding DNA*, *washing DNA* dan terakhir *Eluting DNA* sesuai dengan tahapan *PureLink Genomic DNA Kits*. DNA yang didapatkan disimpan di suhu -20°C.

Chelex-100 dan Saponin. Sampel *FTA Card* dipotong kecil-kecil dan dimasukkan ke dalam *tube* 1,5 mL. Selanjutnya ditambahkan 1 mL saponin 1%, dan divortex, diinkubasi pada suhu 4°C selama 1 jam. Setelah diinkubasi dipipet turun naik berkali-kali selanjutnya filtrat dipindahkan ke *tube* 1,5 mL yang baru. *Tube* yang berisi filtrat disentrifugasi dengan kecepatan 15000 x g selama 5 menit di suhu ruang. Setelah sentrifugasi akan terbentuk pellet di dasar *tube* dan filtrat dibuang. Pellet ditambahkan *Chelex-100* 5% sebanyak 70 µL kemudian diinkubasi pada suhu 99°C selama 10 menit. Kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 15000 x g selama 5 menit di suhu ruang. Filtrat yang merupakan DNA dipindahkan ke *tube* 1,5 mL. Stok DNA disimpan di suhu -20°C.

Elektroforesis. Elektroforesis dilakukan untuk uji kualitatif DNA yang didapatkan dengan menggunakan konsentrasi 1% gel agarose kemudian dilarutkan ke

dalam 0,5 x TBE (*Tris base-Baric acid-EDTA*) dan ditambahkan 1 µL *Gel Red*. Selanjutnya dilakukan elektroforesis selama 10 menit dan kuat arus 100 volt. Gel elektroforesis divisualisasikan menggunakan UV transilluminator.

Analisa Kemurnian dan Konsentrasi DNA.

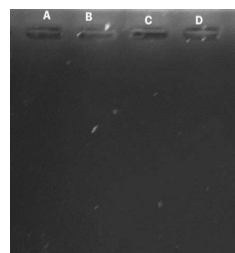
Uji kemurnian dan konsentrasi DNA yang didapat dianalisis dengan menggunakan alat spektrofotometer pada panjang gelombang 260 dan 280 nm. Konsentrasi DNA dihitung menggunakan rumus sebagai berikut, konsentrasi DNA = $A_{260} \times 50 \times \text{faktor pengenceran}$.

Analisis Data. Analisis data penelitian ini berupa data elektroforesis yang menunjukkan ada atau tidaknya pita DNA serta nilai absorbansi dan konsentrasi DNA pada panjang gelombang 260/280. Data yang didapatkan di analisa secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

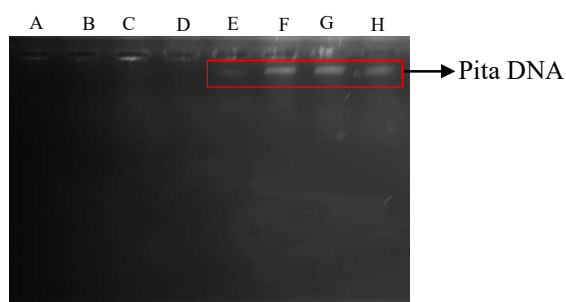
Dari enam belas sampel *FTA Card* yang sudah diisolasi dengan menggunakan empat metode berbeda, selanjutnya dilakukan uji kualitatif menggunakan elektroforesis dan kuantitatif dengan menggunakan spektrofotometer.

Isolasi DNA menggunakan Kit Wizard® Genomic DNA Purification (Promega). Dari hasil uji kualitatif DNA yang diisolasi menggunakan kit *Wizard® Genomic DNA Purification* 6 sampel (Gambar 1, A-D) tidak memperlihatkan adanya pita DNA. Ketidakberhasilan metode ini dapat dipengaruhi oleh suhu yang digunakan selama pelisisan. Perlakuan pada konsentrasi DNA ada tiga yaitu perlakuan suhu, lama inkubasi, dan interaksi antara suhu dengan lama inkubasi dari ketiga faktor tersebut, suhu berpengaruh nyata terhadap konsentrasi DNA⁽⁵⁾. Denaturasi dapat terjadi disebabkan karena isolasi menggunakan suhu yang terlalu tinggi pada proses lisis atau penghancuran sel sehingga DNA *double strand* (untai ganda) akan terurai menjadi rantai tunggal⁽⁶⁾. Rendahnya konsentrasi asam nukleat dapat terjadi karena adanya kontaminasi dengan bahan-bahan kimia yang ada dalam membran *FTA Card* yaitu agens *chaotropic* seperti *guanidine isothiocyanate* yang memiliki fungsi untuk melisiskan lemak⁽⁷⁾.



Gambar 1. Elektroforegram DNA sampel A-D yang diisolasi menggunakan *Wizard® Genomic DNA Purification Kit*.

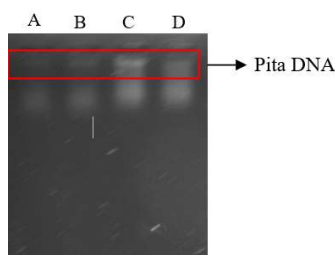
Isolasi DNA menggunakan Kit *PureLink® Genomic DNA* dan Variasi Metode dengan Penambahan SDS 10%. Isolasi DNA menggunakan kit *PureLink® Genomic DNA* dan optimasi penambahan SDS 10% pada empat sampel *blood spots* melalui tahapan *lysis cell*, *binding DNA*, *washing DNA*, dan *elution DNA*. Hasil uji kualitatif DNA (Gambar 2, A-D) menunjukkan bahwa metode kit *PureLink® Genomic DNA* tidak menunjukkan terdapatnya pita DNA, sedangkan dengan variasi metode penambahan SDS 10% menunjukkan (Gambar 2, E-H) terdapatnya pita DNA pada gel agarose.



Gambar 2. Elektroforegram DNA metode *PureLink® Genomic DNA kits* (A-D), *PureLink® Genomic DNA kits + SDS 10%*, (E-H).

Hasil ini bisa dikarenakan dengan penambahan SDS 10% dan inkubasi pada tahap awal mengakibatkan dinding dan membran sel lisis secara sempurna. SDS dapat melarutkan lipid pada membran sel sehingga terjadi destabilisasi membran sel dan mengurangi aktivitas enzim nuklease yang merupakan enzim degradasi DNA^(8,9).

Isolasi DNA menggunakan Chelex-100. Metode 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⁽¹⁰⁾. Uji Kualitatif hasil isolasi DNA 4 sampel *FTA Card* dengan menggunakan metode Chelex-100 menunjukkan adanya pita DNA dengan ketebalan yang berbeda-beda dan terlihat pula adanya pengotor pada setiap pita DNA sampel (Gambar 3, A-D).



Gambar 3. Elektroforegram DNA sampel A-D yang diisolasi Menggunakan Chelex-100.

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/ μ L⁽¹¹⁾. 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⁽¹²⁾.

Uji Kuantitatif DNA. Dari data hasil uji kualitatif didapatkan 8 sampel yang positif terdapat pita DNA pada hasil elektroforegram. Sampel DNA positif dilanjutkan untuk analisa kuantitatif (Tabel 1). Uji kuantitatif dilakukan untuk menguji tingkat kemurnian dan konsentrasi DNA yang telah diisolasi menggunakan nilai absorbansi pada spektrofotometer. Rasio nilai A260 dibagi dengan A280 jika lebih kecil dari 1,8 menurut Devereux dan Wilkinson (2004) menunjukkan adanya kontaminasi yang disebabkan oleh protein atau fenol pada hasil isolasi⁽¹³⁾. Selain itu, jika rasio lebih dari 2,0 ini dimungkinkan terkontaminasi oleh RNA⁽⁴⁾. Hasil uji kuantitatif kemurnian DNA yang didapatkan dari metode isolasi kit *PureLink Genomic DNA + SDS 10%* dan Chelex-100 berkisar antara 1 – 1,1 yang mana nilai ini berada di bawah rasio 1,8-2. DNA yang diperoleh pada kedua metode ini masih belum murni dan terdapat pengotor berupa protein ataupun fenol. 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⁽¹⁴⁾.

Konsentrasi DNA sampel *FTA Card* hasil isolasi dengan menggunakan kit *PureLink Genomic DNA + SDS 10%* memiliki nilai yang bervariasi antara 190 sampai 210 ng/ μ L, sedangkan metode chelex-100 didapatkan konsentrasi 650-950 ng/ μ L. Berdasarkan empat metode yang sudah dilakukan didapatkan secara kualitatif metode *PureLink Genomic DNA + SDS 10%* memperlihatkan pita DNA dengan kualitas yang baik tetapi tidak tajam, sedangkan dari konsentrasi yang didapatkan metode Chelex-100 memberikan hasil yang terbaik dari keempat metode. Beberapa hal yang sangat berperan dalam mempengaruhi konsentrasi dan kemurnian DNA yang dihasilkan adalah proses lisis pada tahap awal isolasi, tahap pencucian DNA yang nantinya akan mengurangi zat pengotor/kontaminan. Diperlukan analisa lanjut untuk mengetahui apakah DNA yang diperoleh bisa digunakan sebagai templat DNA untuk amplifikasi PCR.

Tabel 1. Konsentrasi dan kemurnian hasil isolasi DNA.

| No | Sampel | A260 | A280 | A260/A280 | Konsentrasi DNA ng/μl |
|----|--------------------------------|-------|-------|-----------|-----------------------|
| 1. | PureLink Genomic DNA + SDS 10% | 0,021 | 0,018 | 1,117 | 210 |
| 2. | PureLink Genomic DNA + SDS 10% | 0,019 | 0,016 | 1,162 | 190 |
| 3. | PureLink Genomic DNA + SDS 10% | 0,020 | 0,018 | 1,141 | 200 |
| 4. | PureLink Genomic DNA + SDS 10% | 0,021 | 0,018 | 1,144 | 210 |
| 5. | Chelex-100 | 0,095 | 0,092 | 1,035 | 950 |
| 6. | Chelex-100 | 0,076 | 0,071 | 1,076 | 760 |
| 7. | Chelex-100 | 0,079 | 0,076 | 1,037 | 790 |
| 8. | Chelex-100 | 0,065 | 0,062 | 1,045 | 650 |

SIMPULAN

Dari data hasil komparisasi nilai kemurnian dan konsentrasi DNA *Blood Spot* pada *FTA Card* dengan berbagai metode dapat disimpulkan, tingkat kemurnian isolasi DNA dengan menggunakan metode kit *PureLink® Genomic DNA* penambahan SDS 10% dan metode Chelex-100 bisa digunakan sebagai metode isolasi DNA *Blood Spot* tetapi masih terdapat kontaminasi dan konsentrasi DNA yang didapatkan masih rendah.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta serta pihak yang membantu pelaksanaan penelitian, yang tidak dapat disebutkan satu-persatu.

DAFTAR PUSTAKA

- Novita R. FTA Cards sebagai tempat penyimpanan spesimen yang optimal dan sesuai dengan aspek biosafety. *Sel Jurnal Penelitian Kesehatan*. 2017. 4(2):81-90.
- Green H, Tillmar A, Pettersson G, Montelius K. The use of FTA cards to acquire DNA profiles from postmortem cases. *International journal of legal medicine*. 2019. 133(6):1651-7.
- Jignal P, Shaikh MG, Darshan M. Forensic conception: DNA typing of FTA spotted samples. *J Appl Biol Biotechnol*. 2014. 2:21-9.
- Khosravinia H, Ramesha KP. Influence of EDTA and magnesium on DNA extraction from blood samples and specificity of polymerase chain reaction. *African Journal of Biotechnology*. 2007. 6(3): 184-7.
- Langga IF, Restu M, Kuswinanti T. Optimalisasi suhu dan lama inkubasi dalam ekstraksi DNA tanaman bitti (*Vitex cofassus* Reinw) serta analisis keragaman genetik dengan teknik RAPD-PCR. *J. Sains & Teknologi*. 2012. 12(3):265-76.
- Fatchiyah AE, Widyarti S, Rahayu S. *Biologi Molekular Prinsip Dasar Analisis*. Jakarta: Erlangga. 2011. 34-55.
- Syahputra A, Mutaqin KH, & Damayanti TA. *Komparasi Metode Isolasi DNA Patogen Antraknosa Bulai untuk Deteksi PCR*. *Topatologi Indonesia*. 2016:124-132.
- Surzycki S. *Basic techniques in molecular biology*, Germani:Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 2000.
- Switzer. *Experimental biochemistry*, Oxford:Blackwell Scientific Pub. 1999.
- Walsh PD. Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. *Biotechniques*. 1991. 506-513.
- Sutrisno IK, Arundina I, & Sosiawan A. *Bite marks identification with Chelex methods in DNA*, Surabaya:Depertemen Biologi Oral. 2013.
- Phillips K, McCallum N, Welch LA. Comparison of methods for forensic DNA extraction: Chelex-100 and the QIAGEN DNA investigation kit (manual and automated), *Forensic Science International: Genetics*. 2012. 6(2): 282-285.
- Devereux R, and Wilkinson SS. *Ampification of Ribosomal RNA Sequences*, Kluwer Academic Publisher: Netherlands. 2004.
- Anam, Khairul. *Isolasi DNA Genom*, Bioteknologi Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. 2010.