**UJI KUALITAS DNA METODE CHELEX-SAPONIN DARI SAMPEL FTA CARD**

Rita Maliza^{1),2)*}, **Esa Savitri**^{1),2)}, **Bramadi Arya**³⁾, **Imaniar Noor Faridah**⁴⁾,
Haafizah Dania⁴⁾, **Dyah Aryani Perwitasari**⁴⁾

¹ Fakultas Sains dan Teknologi Terapan, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta

² Laboratorium Bioteknologi dan Biokimia, Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi Terapan, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta

³ Sekolah Pascasarjana, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

⁴ Fakultas Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta

Detail Artikel

Diterima : 20 Mei 2021

Direvisi : 8 Juni 2021

Diterbitkan : 9 Juni 2021

Kata Kunci

FTA card

Chelex-saponin

DM

PCR

Penulis Korespondensi

Name : Rita Maliza

Affiliation : Program Studi

Biologi, Fakultas Sains dan

Teknologi Terapan, Universitas

Ahmad Dahlan, Yogyakarta.

Email : ritamaliza@bio.uad.ac.id

ABSTRAK

Diabetes Melitus (DM) merupakan penyakit yang ditandai dengan kadar gula darah yang tinggi (hiperglikemia) sebagai akibat dari kelainan insulin, aktivitas insulin ataupun sekresi insulin. Studi Genomik DM di Indonesia khususnya di daerah pedalaman masih jarang dilaporkan karena kesulitan pengambilan sampel whole blood pasien DM. Saat ini, FTA card adalah alat yang sangat mudah untuk mengumpulkan, mengirim dan menyimpan sampel biologis. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kualitas DNA yang diisolasi dari FTA card menggunakan metode Chelex-Saponin kemudian dilakukan analisis amplifikasi gen target yang berperan dalam DM menggunakan metode PCR. Sepuluh sampel FTA card pasien DM tipe 2 digunakan. Amplifikasi PCR menggunakan primer spesifik ABCC8, KCNJ11 dan TCF7L2. Hasil penelitian menunjukkan DNA genom berhasil diekstraksi dari FTA card untuk pasien DM tipe 2. Selanjutnya DNA dapat digunakan sebagai DNA cetakan untuk amplifikasi gen ABCC8 (100%), KCNJ11

(60%), dan TCF7L2 (40%). Penelitian ini dapat disimpulkan bahwa metode Chelex-saponin dapat diterapkan sebagai metode ekstraksi DNA sampel darah pada FTA card pasien DM dan selanjutnya dapat dianalisis genomik.

ABSTRACT

Diabetes Mellitus (DM) is a disease characterized by high blood sugar levels (hyperglycemia) due to insulin work disorders, insulin disorders or a combination of both.

Genomic Study on DM in Indonesia, especially in the rural areas, is still rarely reported because of difficulties in whole blood patient DM sample collection. Currently, the FTA card is a very convenient tool for collecting, shipment and storage of biological samples. This study aims to determine the quality of DNA isolated from FTA card using the Chelex-Saponin method and then amplification analysis of target genes that play a role in DM using the PCR method. Ten samples of FTA cards of DM type 2 patient were used. PCR amplification was used with specific primers ABCC8, KCNJ11 and TCF7L2. Results of this stud showed DNA genome was successfully extracted from FTA cards for patient DM type 2. Furthermore, DNA can be used as a template for amplification of genes ABCC8 (100%), KCNJ11 (60%), and TCF7L2 (40%). This study concludes that the Chelex-saponin method can be applied as a method for DNA extraction of blood samples on FTA card of DM patients and continued to genomic analysis.

PENDAHULUAN

Diabetes melitus (DM) merupakan penyakit metabolik yang memiliki karakteristik kadar glukosa darah tinggi (hiperglikemia) akibat kelainan kerja insulin, kelainan insulin atau kombinasi dari keduanya. Kriteria diabetes apabila kadar glukosa pada keadaan berpuasa selama 8 jam ≥ 125 mg/dl dan glukosa plasma dua jam setelah Tes Toleransi Glukosa Oral (TTGO) ≥ 200 mg/dl. Menurut WHO prevalensi kasus DM di dunia pada tahun 2019 yaitu sebanyak 463 juta jiwa. Indonesia pada tahun 2019 menempati peringkat 7 kasus diabetes melitus tertinggi sebanyak 10,7 juta jiwa (Duke *et al.* 2019). Terapi pengobatan DM tipe 2 salah satunya menggunakan golongan sulfonilurea. Salah satu gen yang berperan dalam regulasi sekresi insulin adalah gen ABCC8, KCNJ11 dan TCF7L2.

Gen ABCC8 terletak pada kromosom 11p15.1 yang mengkode protein SUR1 (Sulfonilurea Reseptor-1). Gen KCNJ11 terletak pada kromosom 11p15.1 yang mengkode protein Kir6.1. Gen ABCC8 dan KCNJ11 berperan dalam regulasi insulin pada KATP Channel. Ketika kadar glukosa darah meningkat, sehingga menyebabkan terjadinya peningkatan kadar ATP maupun ADP. Selanjutnya ATP atau ADP akan berikatan dengan reseptor sulfonilurea SUR1 dan Kir 6.1 sehingga menyebabkan keluarnya ion K⁺ dari dalam sel, dan terjadi depolarisasi membran pada sel β . Pembukaan tegangan saluran kalium menyebabkan ion Ca²⁺ masuk ke dalam sel, sehingga kadar ion Ca²⁺ di dalam sel menjadi meningkat dan memicu granula-granula insulin keluar sel (Song *et al.*, 2017).

Gen transkripsi 7-like 2 (TCF7L2) terletak pada kromosom 10q25. Gen TCF7L2 mengode faktor transkripsi High Mobility Group (HMG) yang merupakan komponen utama dalam jalur persinyalan Wnt, yang berperan pada berbagai proses pertumbuhan dan perkembangan sel serta berperan dalam mengatur berbagai jalur seperti adipogenesis, perkembangan sel pada pulau Langerhans dan fungsinya pada sel beta pankreas (Rizvi *et al.* 2016). Jalur persinyalan Wnt memproduksi hormon inkretin yang berperan dalam mengontrol fungsi dan ekspresi beberapa hormon penting pada homeostasis glukosa seperti GLP-1, GIP, serta insulin (Badriyya *et al.* 2020).

Penelitian genomik menggunakan sampel darah pasien DM yang terdapat di daerah terisolir atau pedalaman masih jarang dilaporkan karena kesulitan dalam pengambilan sampel

darah *whole blood* dan analisisnya. Salah satu solusinya yaitu penggunaan *FTA card* yang dapat menyimpan sampel darah dalam bentuk spot pada suhu ruang, akan tetapi hasil isolasi DNA dari sampel *FTA card* masih memiliki kualitas yang rendah untuk dilakukan analisis molekular lanjutan. Salah satu metode isolasi DNA sampel *FTA card* yaitu metode Chelex-saponin. Penelitian ini bertujuan untuk meneliti kualitas DNA hasil ekstraksi menggunakan metode Chelex-saponin pada sampel *FTA card* pasien Diabetes Melitus yang dijadikan DNA cetakan untuk amplifikasi gen *ABCC8*, *KCNJ11* dan *TCF7L2*.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah *microtube* 1,5 mL, vortex, mikropipet, perangkat alat elektroforesis, *power supply*, UV- transiluminator, *thermo cycler* PCR (Bio-Rad, USA), sentrifuge (Backman coulter), *water bath* dan UV Transiluminator. Bahan yang digunakan pada penelitian adalah sepuluh sampel *FTA cards* pasien DM tipe 2 yang diambil dari Rumah sakit yang berada di Kalimantan, Sulawesi, Maluku dan Papua, Chelex-100, Saponin 1%, ddH₂O, agarose, buffer TAE 1x, go taq master mix Promega®, PCR buffer Promega®, *loading dye*, *staining dye*, DNA Ladder 100bp, primer *GADPH forward* dan *reverse*, primer *ABCC8 forward* dan *reverse*, primer *KCNJ11 forward* dan *reverse*, primer *TCF7L2 forward* dan *reverse*.

Isolasi DNA

Sampel *FTA card* di potong-potong menjadi ukuran ± 2 mm dan ditambahkan 1 mL saponin 1% pada tube 1,5 mL, kemudian divortex selama 15 menit dan diinkubasi pada suhu 4°C selama 1 jam. Supernatan dipindahkan ke tube 1,5 mL yang baru dan disentrifugasi pada kecepatan 15.000 x g selama 5 menit. Pellet yang terlihat berwarna coklat gelap diambil dan supernatan dibuang. Pellet ditambahkan 70 μ L chelex-100 5%, kemudian divortex selama 30 detik dan di inkubasi pada suhu 99°C selama 10 menit. Tube disentrifuse pada kecepatan 15.000 x g selama 5 menit. Supernatan yang merupakan DNA diambil dan dipindahkan pada tube 1,5 mL baru dan disimpan pada suhu -20°C.

Uji Kualitatif DNA

Sampel yang telah diisolasi diuji secara kualitatif menggunakan metode elektroforesis dengan konsentrasi Agarose 1,5%. Campuran DNA sebanyak 5 μ L, *loading dye* 3 μ L, dan *staining dye* 5 μ L dimasukkan ke dalam masing-masing sumuran. Gel dielektroforesis dengan arus listrik 100-volt selama 10 menit. Setelah itu divisualisasikan menggunakan UV-transiluminator.

Amplifikasi Gen ABCC8, KCNJ11 dan TCF7L2

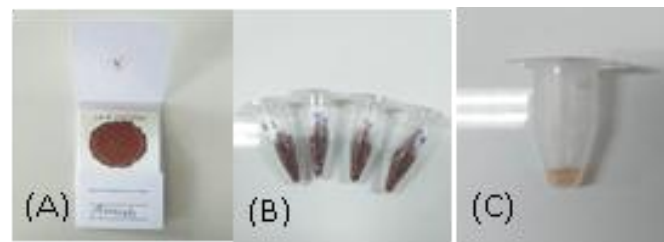
Setelah uji kualitatif DNA dilanjutkan amplifikasi menggunakan PCR (Bio-Rad, USA) dengan primer spesifik gen *ABCC8*, *KCNJ11*, *TCF7L2* dan kontrol *GAPDH*. PCR master mix (Promega) sebanyak 12,5 μ l ditambahkan 1 μ L primer forwards dan reverse masing-

masing gen. Primer forwards ABCC8 (5'- TTG GGT GCA TCT GTC TGT CTG TCT TT-3') dan primer reverse ABCC8 (5'- AGC CCA CCT GCC CCA CGA T-3'). Primer forwards KCNJ11 (5'-GAC TCT GCA GTG AGG CCC TA-3'), dan reverse KCNJ11 (5'-ACG TTG CAG TTG CTT TTC TT-3'). Primer forwards TCF7L2 (5'-TTA GAG AGC TAA GCA CTT TTT AGG TA-3'), dan reverse TCF7L2 (5'-AGA GAT GAA ATG TAG CAG TGA AGT G-3'). Primer forwards GAPDH (5'- AGG TGA AGG TCG GAG TCA ACG -3') dan reverse GAPDH (5'- GAT GAC AAG CTT CCC GTT CTC AG -3'). Setelah itu ditambahkan Nuclease free water sebanyak 5,5 µL dan terakhir ditambahkan sampel DNA sebanyak 5 µL. Hasil akhir reaction volume sebesar 25µ diamplifikasi dengan program PCR yang berbeda-beda setiap gennya. Program PCR gen ABCC8 denaturasi awal suhu 94°C selama 5 menit, denaturasi suhu 94°C selama 20 detik, annealing suhu 60,5 °C selama 40 detik, ekstensi suhu 72°C selama 1 menit dan final ekstensi suhu 72°C selama 5 menit. Program PCR gen KCNJ11 denaturasi awal suhu 94°C selama 5 menit, denaturasi suhu 94°C selama 30 detik, annealing suhu 61°C selama 30 detik, ekstensi suhu 72°C selama 40 detik, dan final ekstensi suhu 72°C selama 4 menit. Program PCR gen TCF7L2 denaturasi awal suhu 95°C selama 3 menit, denaturasi suhu 95°C selama 1 menit, annealing suhu 57,5°C selama 50 detik, ekstensi suhu 72°C selama 50 detik, dan final ekstensi suhu 72°C selama 10 menit. Hasil PCR selanjutnya divisualisasi dengan gel elektroforesis dengan konsentrasi agarose 2%, kuat arus 60 Volt selama 80 menit.

HASIL DAN PEMBAHASAN

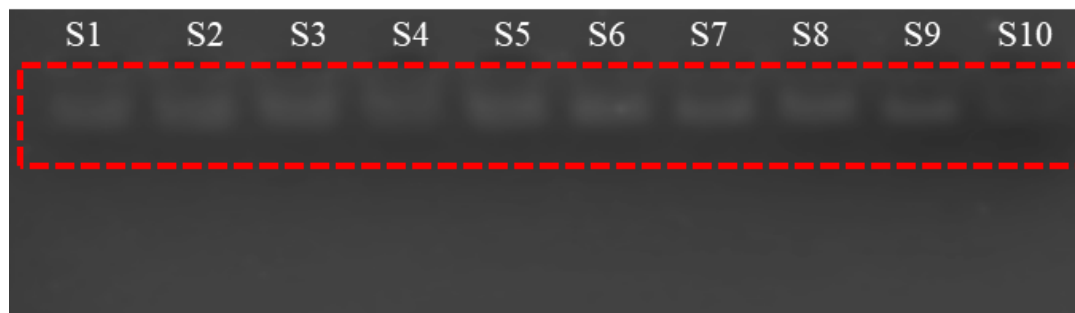
Isolasi DNA

Sampel darah pasien DM pada penelitian ini disimpan dalam disk FTA card. FTA card merupakan kertas yang terdapat beberapa senyawa kimia seperti agen pengikat, anion surfactant atau detergen, basa lemah, asam urat atau garam urat yang dapat melisis membran sel dan mendenaturasi protein, sehingga yang tertinggal hanya asam nukleat dalam kondisi yang stabil (Novita, 2017). Penambahan saponin pada proses isolasi berfungsi sebagai pelisis sel. Larutan saponin tersusun dari senyawa amphiphilic yang terdiri dari bagian hydrophilic dan steroid lipofilik atau bagian triterpenik (Lorent *et al.* 2014). Saponin secara tradisional banyak digunakan pada ekstraksi *Dried Blood Spots* (DBS) yang berinteraksi dengan kolesterol pada membran sel (Simon *et al.* 2020). Sedangkan larutan resin Chelex-100 merupakan kopolimer styrene divinylbenzene yang mengandung iminodiacetate berpasangan yang dapat mengikat ion polyvalent (Cho *et al.* 2007). Chelex-100 berfungsi untuk mengikat DNA dan melindungi dari enzim DNase dengan cara mengikat ion magnesium (Mg²⁺) yang merupakan kofaktor enzim DNase. (Singh *et al.* 2018). Suhu inkubasi 99°C yang digunakan pada metode isolasi DNA bertujuan untuk memberikan efek hot shock sehingga sel darah akan lisis dan DNA akan terlepas dari sel bersamaan dengan enzim dan protein (Kambara *et al.* 2014).



Gambar 1. Persiapan Sampel (A) Sampel FTA card, (B) Sampel FTA cards yang sudah digunting, dan (C) Isolat DNA metode Chelex-saponin.

Pada Gambar 1 (a). Dapat dilihat sampel darah yang ditotolkan pada FTA card. Volume darah kapiler yang diambil sekitar 10-250 μ L (Tani *et al.* 2008). Sampel FTA cards (Gambar 1 (b) dipotong menjadi ukuran lebih kecil untuk memperluas permukaan sehingga mempermudah dalam proses penguraian komponen-komponen sel dan materi genetik ke dalam larutan saponin. Proses lisis ini juga dibantu dengan lisis secara mekanik yaitu vortex. Gambar 1 (c) memperlihatkan hasil ekstraksi DNA yang dihasilkan dari metode Chelex-saponin terlihat berwarna tidak sama seperti hasil ekstraksi DNA dengan menggunakan metode kit (bening). Hal ini kemungkinan masih terdapat debris-debris atau pengotor hasil denaturasi protein yang tidak mengendap ketika proses sentrifugasi. Pada penelitian ini dilakukan uji kualitatif DNA dengan metode elektroforesis untuk melihat ada atau tidaknya hasil ekstraksi DNA serta kemurnian hasil ekstraksi. Hasil visualisasi uji kualitatif metode elektroforesis DNA sampel dapat dilihat pada Gambar 2.



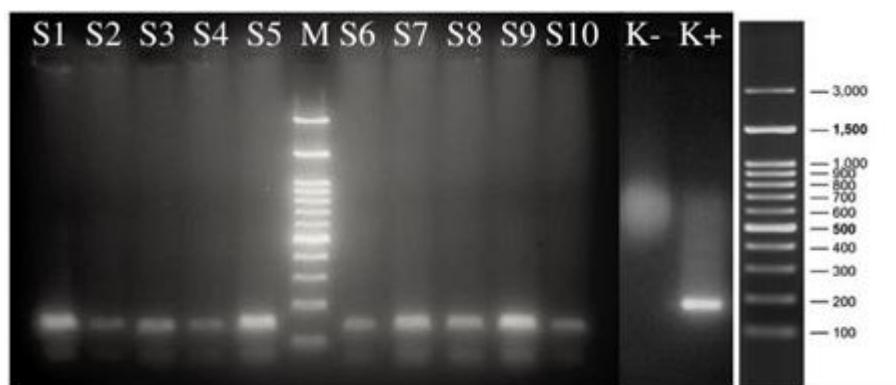
Gambar 2. Visualisasi hasil elektroforesis DNA sampel 1-10 pada gel agarose 1,5%.

Pada Gambar. 2 terlihat intensitas fluoresens pita DNA tidak terlalu tajam dan kuat. Menurut Hartawan *et al.* (2015) terang atau tajamnya pendaran DNA yang dihasilkan menunjukkan konsentrasi DNA, semakin terang dan tajam pita DNA maka semakin tinggi konsentrasi DNA yang dihasilkan. Pada sampel 10 terlihat pita yang tidak terlalu jelas, hal ini menandakan konsentrasi sampel lebih kecil dibandingkan dengan sampel lainnya. Adanya smear pada pita DNA menunjukkan adanya pengotor atau molekul lain yang ikut terisolasi selain DNA. Menurut Perwitasari *et al.*, (2020) smear yang muncul pada gel agarose

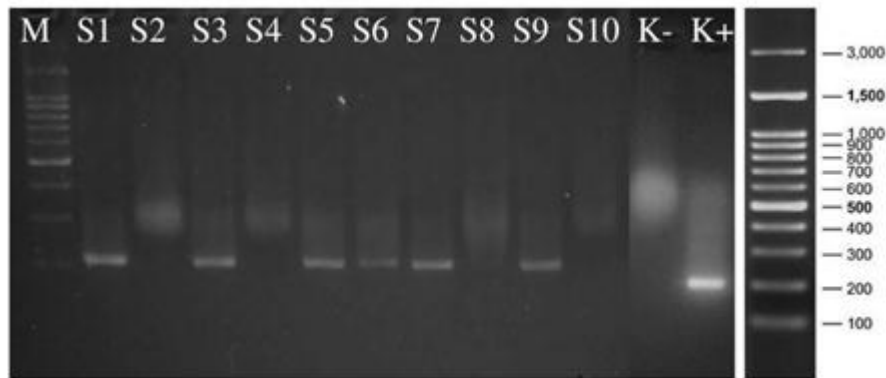
menunjukkan terdapat materi lain yang ikut terisolasi selain DNA, kemungkinan berupa protein atau fenol. Sampel hasil ekstraksi yang diperoleh pada penelitian ini kemungkinan masih terdapat RNA, karena pada tahapan isolasi tidak ada tahapan penambahan enzim RNase yang dapat mendegradasi RNA sebagai pengotor dan kemungkinan lainnya masih terdapat debris-debris protein yang menempel pada DNA. Oleh karena itu hasil uji kualitatif DNA pada semua sampel terdapat DNA tetapi memiliki konsentrasi dan kemurnian DNA yang rendah. Konsentrasi DNA yang rendah bisa disebabkan karena jumlah sel leukosit dalam darah yang ditotolkan pada disk FTA *card* sedikit, sehingga akan mempengaruhi konsentrasi DNA genom yang di dapatkan. Pada kasus kejahatan forensik Sutrisno *et al.*, (2013) melaporkan kualitas pita DNA yang diisolasi menggunakan metode Chelex-100 didapatkan hasil pita DNA yang tipis dan tingkat kemurnian yang rendah dengan nilai konsentrasi rata-rata 52,61 ng/ μ L.

Amplifikasi gen *ABCC8*, *KCNJ11* dan *TCF7L2*

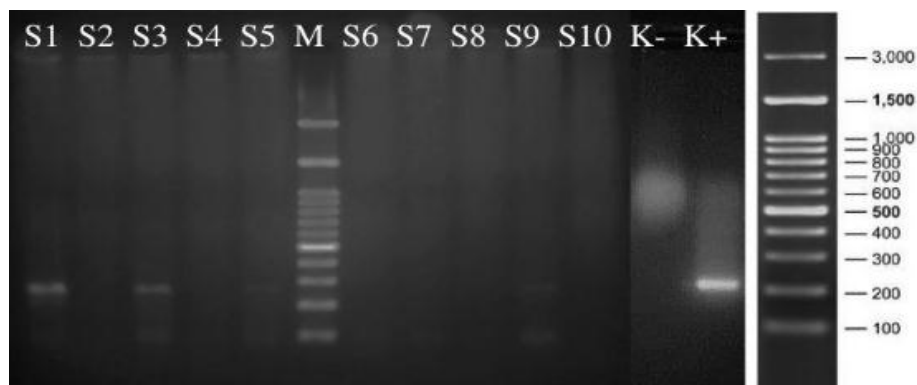
DNA hasil ekstraksi yang telah diuji kualitatif, selanjutnya dijadikan DNA cetakan untuk amplifikasi gen *ABCC8*, *KCNJ11*, dan *TCF7L2*. Pada proses amplifikasi digunakan primer spesifik dengan suhu annealing yang berbeda-beda. Gen *ABCC8*, *KCNJ11* dan *TCF7L2* berperan penting dalam penyakit diabetes melitus. Gen *ABCC8* mengodekan protein SUR1, sedangkan gen *KCNJ11* mengodekan protein Kir.6.1 yang berperan dalam regulasi insulin dalam KATP channel pada sel beta pankreas, dan gen *TCF7L2* mengode faktor transkripsi High Mobility Group (HMG) yang berperan dalam jalur persinyalan Wnt. Jalur persinyalan Wnt memproduksi hormon incretin yang berperan dalam mengatur homeostasis glukosa seperti GLP-1, GIP, dan Insulin (Badriyya *et al.* 2020).



Gambar 3. Hasil visualisasi DNA amplifikasi gen *ABCC8* S1-S10 (122 bp) metode Chelex-saponin pada gel agarose 2% (Ladder = 100 bp, Kontrol negatif ddH₂O (K-), Kontrol positif GAPDH (K+) = 200 bp).



Gambar 4. Hasil visualisasi DNA amplifikasi gen KCNJ11 S1-S10 (210 bp) metode Chelex-saponin pada gel agarose 2% (Ladder = 100 bp, Kontrol negatif ddH₂O (K-), Kontrol positif GAPDH (K+) = 200 bp).



Gambar 5. Hasil visualisasi DNA amplifikasi gen TCF7L2 S1-S10 (201 bp) metode chelex-saponin pada gel agarose 2% (Ladder = 100 bp, Kontrol negatif ddH₂O (K-), Kontrol positif GAPDH (K+) = 200 bp).

Berdasarkan hasil visualisasi elektroforesis (Gambar. 3) menunjukkan seluruh sampel (100%) dapat mengemplifikasi gen ABCC8 pada ukuran 122 bp. Hasil visualisasi elektroforesis DNA hasil amplifikasi (Gambar. 4) dapat menunjukkan gen KCNJ11 dapat teramplifikasi (60%) pada ukuran 210 bp. Visualisasi elektroforesis DNA hasil amplifikasi gen TCF7L2 (Gambar. 5) mrmperlihatkan hasil amplifikasi sampel (40%) gen TCF7L2 pada ukuran 201 bp. Hasil amplifikasi gen ABCC8, KCNJ11 dan TCF7L2 memiliki pendaran pita DNA yang berbeda-beda hal ini kemungkinan disebabkan karena adanya perbedaan konsentrasi DNA. Menurut Singh *et al.*, (2014) Syarat konsentrasi DNA untuk amplifikasi PCR yaitu 0,01-1 ng pada DNA genom. Sampel DNA yang tidak teramplifikasi pada gen KCNJ11 dan TCF7L2, kemungkinan disebabkan karena DNA yang telah diisolasi memiliki konsentrasi DNA yang rendah, untuk mengatasinya diperlukan volume DNA yang lebih

banyak dari sebelumnya. Amplifikasi tidak berjalan kemungkinan karena DNA mengalami fragmentasi karena pemanasan dengan suhu tinggi 99°C. Menurut Phillips *et al.*, (2012) pemanasan yang dilakukan selama proses ekstraksi DNA dapat menyebabkan DNA terdegradasi. DNA yang telah terdegradasi menjadi fragmen-fragmen kecil dapat mengurangi produk PCR yang dihasilkan, namun masih bisa teramplifikasi jika fragmen tumpang tindih dengan fragmen lainnya sehingga primer spesifik yang akan mengenali daerah gen target (Şakalar *et al.*, 2012). Syaifudin *et al.*, (2015) melaporkan perbandingan lima metode isolasi sampel darah FTA *card* pasien malaria menggunakan metode Kit Invitrogen, Chelex-saponin, Methanol, Microwave, dan Tris-EDTA untuk mendeteksi Plasmodium falciparum, Plasmodium malariae, dan Plasmodium vivax. Pada metode Kit terdapat pita DNA yang teramplifikasi, sedangkan pada metode Chelex-saponin tidak terdapat pita DNA. Pada penelitian Irawati (2011), menggunakan sampel FTA *card* darah pasien yang terinfeksi Plasmodium falciparum. DNA sampel diekstraksi menggunakan metode Chelex-saponin dengan tahapan-tahapan yang sama pada penelitian ini. DNA hasil ekstraksi dapat digunakan sebagai DNA cetakan untuk amplifikasi gen MSP 1 dengan tiga alel yang berbeda pada ukuran 99 bp, 120 bp dan 147 bp. Berdasarkan hasil dari penelitian ini gen ABCC8, KCNJ11 dan TCF7L2 dapat teramplifikasi dengan menggunakan DNA yang diekstraksi dengan metode Chelex-saponin pada sampel FTA *card*. Metode ekstraksi ini memiliki beberapa keuntungan yaitu simpel, murah, dan efisien. FTA *card* dapat dijadikan salah satu alat untuk penyimpanan sampel darah pasien yang berada didaerah pedalaman dan jauh dari akses laboratorium untuk kajian penelitian genomik, terutama pada penyakit diabetes melitus.

SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa metode Chelex-saponin dapat diterapkan sebagai metode ekstraksi DNA sampel darah pada FTA *card* pasien DM dan bisa dilanjutkan untuk analisis genomik.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat (LPPM) Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta yang telah memfasilitasi dan mendanai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Badriyya, E., & Achyar, A. (2020). Primer Construction to detect SNP rs11196205 Transcription Factor 7 Like 2 (TCF7L2) Using Amplification Refractory Mutation System (ARMS) PCR to detect Type-2 Diabetes Mellitus. *Bioscience*, 4(2), 151. <https://doi.org/10.24036/0202042108497-0-00>

Cho, Y.-E., Lomeda, R.-A. R., Ryu, S.-H., Lee, J.-H., Beattie, J. H., & Kwun, I.-S. (2007). Cellular Zn depletion by metal ion chelators (TPEN, DTPA and chelex resin) and its

- application to osteoblastic MC3T3-E1 cells. *Nutrition Research and Practice*, 1(1), 29. <https://doi.org/10.4162/nrp.2007.1.1.29>
- Duke, L., Fereira de Moura, A., de Lapertosa, S., et al. (2019). IDF Diabetes Atlas 9th edition 2019. In *International Diabetes Federation Diabetes Atlas, Ninth Edition*. <https://www.diabetesatlas.org/en/>
- Hartawan, I.G.N.B.A., Arsa, M., Komang Ariati, N., & Nengah Wirajana, dan I. (2015). Isolasi DNA Metagenomik dari Madu dengan dan Tanpa Pengayaan Media LB (Luria-Bertani). *Jurnal Kimia (Journal of Chemistry)*. <https://ojs.unud.ac.id/index.php/jchem/article/view/16330>
- Irawati, N. (2011). Genetic polymorphism of merozoite surface protein-1 (MSP-1) block 2 allelic types in Plasmodium falciparum field isolates from mountain and coastal area in West Sumatera, Indonesia. *Medical Journal of Indonesia*, 11. <https://doi.org/10.13181/mji.v20i1.422>
- Singh, J., Birbian, N., Sinha, S., Goswami, A. (2014). A critical review on PCR, its types and applications. *International Journal of Advanced Research in Biological Sciences*, 1(7), 65–80. <http://www.ijarbs.com/pdfcopy/oct2014/ijarbs11.pdf>
- Kambara, C. S., Boissaye, R., Stewart, J., & Staton, P. (n.d.). *Development and Internal Validation of a Chelex® DNA Extraction Protocol for Reference Oral Swabs*.
- Lorent, J. H., Quetin-Leclercq, J., & Mingeot-Leclercq, M.-P. (2014). The amphiphilic nature of saponins and their effects on artificial and biological membranes and potential consequences for red blood and cancer cells. *Org. Biomol. Chem.*, 12(44), 8803–8822. <https://doi.org/10.1039/C4OB01652A>
- Novita, R. (2017). FTA Cards sebagai tempat penyimpanan spesimen yang optimal dan sesuai dengan aspek biosafety. *Sel Jurnal Penelitian Kesehatan*, 4(2), 81–90. <https://doi.org/10.22435/sel.v4i2.1469>
- Perwitasari, D. A., Faridah, I. N., Ratnasari, Y. A., Agustina, K., Utami, I. N., & Maliza, R. (2020). Uji Banding Metode Isolasi DNA Sampel FTA Card menggunakan Kit Wizard® Genomic DNA Purification, PureLink® Genomic DNA, dan Chelex-100. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 18(2), 241–245. <https://doi.org/10.35814/JIFI.V18I2.838>
- Phillips, K., McCallum, N., & Welch, L. (2012). A comparison of methods for forensic DNA extraction: Chelex-100® and the QIAGEN DNA Investigator Kit (manual and automated). *Forensic Science International: Genetics*, 6(2), 282–285. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2011.04.018>
- Rizvi, S., Raza, S. T., Rahman, Q., & Mahdi, F. (2016). Role of GNB3, NET, KCNJ11, TCF7L2 and GRL genes single nucleotide polymorphism in the risk prediction of type 2 diabetes mellitus. *3 Biotech*, 6(2), 255. <https://doi.org/10.1007/s13205-016-0572-x>

- Şakalar, E., Abasiyanik, M. F., Bektik, E., & Tayyrov, A. (2012). Effect of Heat Processing on DNA Quantification of Meat Species. *Journal of Food Science*, 77(9), N40–N44. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2012.02853.x>
- Simon, N., Shallat, J., Williams Wietzikoski, C., & Harrington, W. E. (2020). Optimization of Chelex 100 resin-based extraction of genomic DNA from dried blood spots. *Biology Methods and Protocols*, 5(1). <https://doi.org/10.1093/biomethods/bpaa009>
- Singh, U. A., Kumari, M., & Iyengar, S. (2018). Method for improving the quality of genomic DNA obtained from minute quantities of tissue and blood samples using Chelex 100 resin. *Biological Procedures Online*, 20(1), 12. <https://doi.org/10.1186/s12575-018-0077-6>
- Sutrisno, I. K., Arundina, I., & Sosiawan, A. (2013). Identifikasi bite marks dengan ekstraksi DNA metode Chelex (Bite marks identification with Chelex methods in DNA extraction). *Dental Journal (Majalah Kedokteran Gigi)*, 46(2), 107. <https://doi.org/10.20473/j.djmkkg.v46.i2.p107-112>
- Song, J., Yang, Y., Mauvais-Jarvis, F., Wang, Y.-P., & Niu, T. (2017). KCNJ11, ABCC8 and TCF7L2 polymorphisms and the response to sulfonylurea treatment in patients with type 2 diabetes: a bioinformatics assessment. *BMC Medical Genetics*, 18(1), 64. <https://doi.org/10.1186/s12881-017-0422-7>
- Syaifudin, M., & Yuliwati, D. H. W. (2015). Evaluation of Five Methods Used to Extract Deoxyribonucleic Acid (DNA) From Human Malaria Parasitized Blood Spotted on the Filter Paper. *Asian Journal of Applied Sciences*, 3(3 SE-). <https://ajouronline.com/index.php/AJAS/article/view/2682>
- Tani, H., Tada, Y., Sasai, K., & Baba, E. (2008). Improvement of DNA Extraction Method for Dried Blood Spots and Comparison of Four PCR Methods for Detection of Babesia gibsoni (Asian Genotype) Infection in Canine Blood Samples. *Journal of Veterinary Medical Science*, 70(5), 461–467. <https://doi.org/10.1292/jvms.70.461>