

Optimizing Centrifugation Speed of Blood Samples for Molecular Based Examination of Type 2 Diabetes Melitus (T2D) [Optimasi Kecepatan Sentrifugasi Sampel Darah Untuk Pemeriksaan Diabetes Melitus Tipe 2 (T2D) Berbasis Molekuler]

Fitrian Desi Prameswari¹⁾, Miftahul Mushlih^{*2)}

¹⁾Program Studi Teknologi Laboratorium Medis, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

²⁾Program Studi Teknologi Laboratorium Medis, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

*Email Penulis Korespondensi: mif.mushlih@umsida.ac.id

Abstract. Type 2 Diabetes Mellitus (T2D) is a metabolic disorder caused by dysfunction of insulin secretion by pancreatic beta cells and the inability of insulin tissue to respond appropriately to insulin. Molecular-based examination can make it easier to determine appropriate diagnostic biomarkers and biologically this disease appears long before clinical symptoms develop. Blood isolation samples from the buffy coat contained higher levels of DNA than whole blood samples. The aim of this research is to determine the difference in centrifugation speed of blood samples to determine the concentration and purity of DNA in molecular-based Type 2 Diabetes Mellitus (T2D) examination. The research was carried out quantitatively using descriptive experimental research using purposive sampling techniques. The samples used were 5 blood samples from T2D patients which were divided into 5 treatment groups (without centrifugation, centrifugation speed 500 rpm, 1500 rpm, 3000 rpm and 4500 rpm for 5 minutes). Test examinations are carried out qualitatively (electrophoresis) and quantitatively (Uv-Vis Spectrophotometer). Research data was analyzed using the one way Anova test. From the test results, the concentration value ($p=0.558$) and purity value ($p=0.353$) were obtained, which showed that there was no significant difference in the treatment. High DNA purity was obtained in blood samples with centrifugation at a speed of 3000 rpm and the highest DNA concentration was obtained in blood samples without centrifugation.

Keywords - ; Type 2 Diabetes Mellitus (T2D); Centrifugation; Qualitative Test; Quantitative Test

Abstrak. Diabetes Melitus Tipe 2 (T2D) merupakan penyakit gangguan metabolisme yang disebabkan disfungsi sekresi insulin oleh sel beta pankreas dan ketidakmampuan jaringan insulin untuk merespons insulin secara tepat. Pemeriksaan berbasis molekuler dapat memudahkan dalam menentukan biomarker diagnostik yang tepat dan secara biologis penyakit ini muncul jauh sebelum gejala klinis berkembang. Sampel isolasi darah pada bagian buffy coat, terkandung DNA yang lebih tinggi daripada sampel whole blood. Tujuan penelitian ini yaitu mengetahui perbedaan kecepatan sentrifugasi sampel darah untuk mengetahui konsentrasi dan kemurnian DNA pada pemeriksaan Diabetes Melitus Tipe 2 (T2D) berbasis molekuler. Penelitian dilakukan secara kuantitatif dengan jenis penelitian deskriptif eksperimental dengan teknik purposive sampling. Sampel yang digunakan berjumlah 5 sampel darah pasien T2D yang dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan (tanpa sentrifugasi, sentrifugasi kecepatan 500 rpm, 1500 rpm, 3000 rpm, dan 4500 rpm selama 5 menit). Pemeriksaan uji dilakukan secara kualitatif (elektroforesis) dan kuantitatif (Spektrofotometer Uv-Vis). Data penelitian dianalisis menggunakan uji one way Anova. Dari hasil uji tersebut didapatkan hasil nilai konsentrasi ($p=0,558$) dan hasil nilai kemurnian ($p=0,353$) yang menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan secara signifikan terhadap perlakuan. Kemurnian DNA yang tinggi didapatkan pada sampel darah dengan perlakuan sentrifugasi kecepatan 3000 rpm dan konsentrasi DNA tertinggi didapatkan pada sampel darah tanpa sentrifugasi.

Kata Kunci - ; Diabetes Melitus Tipe 2(T2D); Sentrifugasi; Uji Kualitatif; Uji Kuantitatif

I. PENDAHULUAN

Diabetes Melitus Tipe 2 (T2D) merupakan penyakit gangguan metabolisme yang disebabkan disfungsi sekresi insulin oleh sel beta pankreas dan ketidakmampuan jaringan insulin untuk merespons insulin secara tepat [1]. Penyakit ini juga disebut dengan penyakit multifaktorial karena dapat disebabkan karena faktor genetik, lingkungan, dan kombinasi antara genetik dan lingkungan [2].

Salah satu penyakit tidak menular yang menjadi prioritas adalah penyakit Diabetes Melitus (DM). Jumlah penderita DM di Jawa Timur dalam 3 tahun (2019-2021) terakhir mengalami peningkatan di tahun 2021. Pelayanan kesehatan penderita DM di Fasilitas Kesehatan Tingkat Pertama (FKTP) pada 38 kabupaten/kota se Jawa Timur tahun

2019 mencapai 807.712 kasus, tahun 2020 sebanyak 785.983 kasus, dan pada tahun 2021 sebanyak 867.257 kasus atau 93,3% dari estimasi penderita DM yang ada dengan jumlah 929.810 kasus. Jumlah estimasi tersebut sebesar 2,6 dari penduduk usia 15 tahun ke atas [3].

Gen yang terlibat dalam penyakit T2D cukup banyak seperti gen TCF7L2, APOA1, KCNQ1, TXNIP, SREBF1, dan FTO, sehingga pemeriksaan berbasis molekuler dapat memudahkan dalam menentukan biomarker diagnostik yang tepat dan secara biologis penyakit ini muncul jauh sebelum gejala klinis berkembang [4]. Hal tersebut menunjukkan bahwa diagnosis diabetes dini (misalnya, pradiabetes) pada seseorang yang memiliki potensi terkena penyakit diabetes memainkan peran penting dalam pencegahan komplikasinya dan identifikasi biomarker dapat berkontribusi terhadap pemahaman tentang patogenesis yang terlibat dalam penyakit T2D pada tahap awal [5].

Darah merupakan jaringan yang paling sering digunakan dalam melakukan isolasi DNA, untuk mendapatkan DNA genom dalam jumlah besar dan berkualitas tinggi [6]. Ketepatan dalam ekstraksi DNA dari sampel darah merupakan syarat terpenting dalam menganalisis kelainan genetik [7]. Prinsip-prinsip yang harus diperhatikan dalam melakukan isolasi DNA salah satunya adalah proses sentrifugasi [8].

Kekuatan dari proses sentrifugasi memiliki pengaruh terhadap kadar DNA, karena lisis dari sel darah putih dalam sampel darah mengalami peningkatan. Namun sampel darah yang kurang dimurnikan mengandung lebih banyak sisa seluler seperti protein dan asam nukleat yang dapat menyebabkan isolasi DNA kurang maksimal [9].

Berdasarkan hasil penelitian perbandingan kualitas DNA yang diisolasi dengan metode column dengan dan tanpa sentrifugasi menunjukkan perbedaan yang signifikan dimana sampel darah dengan perlakuan sentrifugasi yang diambil *buffy coat*, memiliki kemurnian dan konsentrasi yang lebih tinggi dibandingkan dengan sampel darah tanpa perlakuan sentrifugasi [10]. Namun berbeda dengan penelitian yang membandingkan hasil uji konsentrasi dan indeks kemurnian isolasi darah tepi dan *swab buccal* pada bayi penderita Retinopati Prematuritas (ROP), meskipun rata-rata konsentrasi DNA dari sampel yang telah disentrifugasi dan diambil *buffy coat* lebih tinggi daripada sampel *whole blood*, namun tidak ditemukan perbedaan yang signifikan, dan hasil dari kemurnian DNA tertinggi terdapat pada sampel *whole blood* daripada sampel *buffy coat* namun tidak juga ditemukan perbedaan yang signifikan [11].

Penelitian tentang sampel darah pra analitik untuk analisis cfDNA untuk diagnostik kanker molekuler menunjukkan terdapat penurunan konsentrasi cfDNA plasma sebesar 2,5-3,0 kali lipat setelah sentrifugasi dua langkah dibandingkan dengan sentrifugasi lambat satu langkah, namun tidak ada perbedaan signifikan terhadap sentrifugasi dua langkah dengan kecepatan dan waktu yang dimodifikasi [9]. Selanjutnya penelitian tentang mengoptimalkan metode pra analitik deteksi mutasi KRAS pada pasien kanker paru menunjukkan sentrifugasi dua langkah tidak menurunkan hasil DNA dibandingkan dengan darah yang diproses 2 jam pasca pengumpulan, namun langkah kedua secara signifikan dapat mengurangi hasil DNA dalam darah yang diproses 72 jam pasca pengumpulan hal ini dapat terjadi karena kontaminasi DNA inti yang terjadi selama 72 jam karena adanya lisis sel darah putih yang tidak dipelet secara efisien [12].

Berdasarkan penelitian yang di atas, dengan sampel penelitian yang digunakan yaitu sampel darah penderita kanker, namun untuk penderita Diabetes Melitus masih kurangnya informasi dari penggunaan kecepatan sentrifugasi untuk isolasi DNA, sehingga perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui optimasi kecepatan sentrifugasi sampel darah untuk pemeriksaan penyakit T2D berbasis molekuler.

II. METODE

Penelitian ini telah melakukan uji kelaikan etik (*ethical clearance*) di Komisi Kelaikan Etik Penelitian dan Kesehatan (KKEPK) Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya dengan nomor 0597/HRECC.FODM/VI/2024. Penelitian dilakukan secara kuantitatif dengan jenis penelitian deskriptif eksperimental. Populasi dalam penelitian ini yaitu pasien penderita TD2 di Rumah Sakit Bhayangkara Pusdik Sabhara Porong. Pengambilan sampel dilakukan dengan cara *purposive sampling* dengan kriteria subyek memiliki riwayat T2D dengan dibuktikan dokumen pendukung seperti hasil rekam medik pasien, nilai kadar glukosa >200 mg/dL, berjenis kelamin laki-laki atau perempuan berusia ≥ 20 tahun, serta bersedia menjadi subjek penelitian ini yang dilampirkan dengan *informed consent*. Besar sampel dihitung dengan menggunakan rumus Federer didapatkan jumlah sampel sebanyak 5 sampel darah, dari 5 sampel darah tersebut kemudian dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan sehingga total sampel berjumlah 25. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei-Juni 2024. Adapun tempat penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler Prodi D-IV Teknologi Laboratorium Medis Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Sidoarjo.

Preparasi sampel dimulai dengan melakukan makrosampling darah EDTA sebanyak 5cc kemudian dibagi ke dalam tube 1,5 ml dengan masing-masing 1cc darah. Berdasarkan Permenkes tahun 2013 Standar Prosedur Operasional (SPO) pemisahan spesimen darah yaitu sentrifugasi selama 5-15 menit dengan kecepatan 3000 rpm [13]. Sehingga peneliti melakukan variasi perlakuan dalam melakukan isolasi DNA sebagai berikut : perlakuan 1 (sampel darah tanpa sentrifugasi atau kontrol negatif), perlakuan 2 (sampel darah disentrifugasi kecepatan 500 rpm 5 menit),

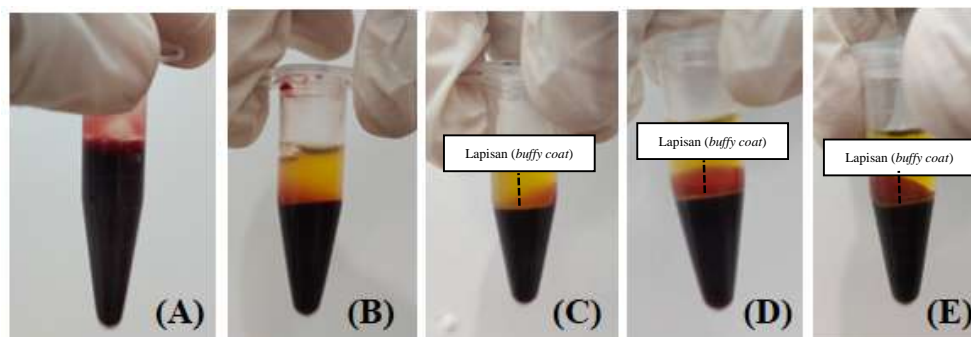
perlakuan 3 (sampel darah disentrifugasi pada kecepatan 1500 rpm 5 menit), perlakuan 4 (sampel darah disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm 5 menit), perlakuan 5 (sampel darah disentrifugasi pada kecepatan 4500 rpm 5 menit).

Darah yang telah disentrifugasi kemudian diambil pada bagian *buffy coat* nya masing-masing sampel diambil sebanyak 200 μ L dan dilakukan isolasi DNA column dengan kit merk TianGen, kemudian dilanjutkan uji secara kualitatif dengan elektroforesis gel agarose dan uji kuantitatif dengan Spektrofotometer Uv-Vis Thermo Scientific *double beam* tipe *evolution* 201 untuk mengetahui kemurnian dan konsentrasi DNA. Data-data yang diperoleh dari uji kuantitatif kemudian diuji secara statistik menggunakan SPSS 2023 menggunakan uji *one way* Anova dengan taraf signifikansi sebesar $\alpha=0,05$.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

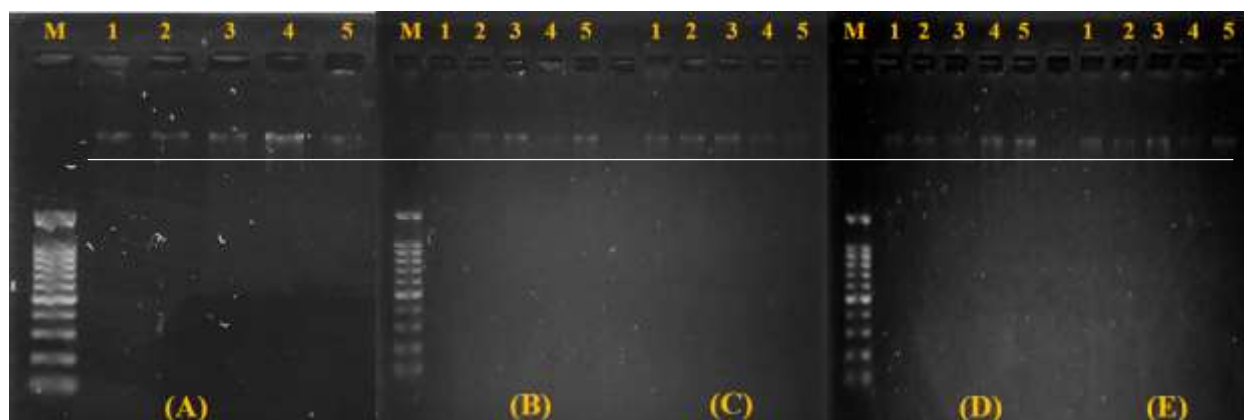
A. Data Hasil Penelitian

Darah yang disentrifugasi akan terpisah menjadi 3 bagian, bagian bawah yang berupa komponen padat tersusun atas sel darah merah atau eritrosit, dan bagian tengah berupa *buffy coat* yang tersusun atas sel darah putih atau leukosit dan trombosit, kemudian pada bagian atas merupakan komponen cair yang mengandung plasma [14]. Pada bagian *buffy coat*, terkandung DNA yang lebih tinggi karena banyak sel berinti yang terkonsentrasi didalamnya daripada sampel *whole blood* yang tercampur dengan komponen lainnya yang tidak mengandung DNA genom [11].



Gambar 1. Perlakuan sampel : tanpa sentrifugasi (A), sentrifugasi 500 rpm (B), sentrifugasi 1500 rpm (C), sentrifugasi 3000 rpm (D), sentrifugasi 4500 rpm (E).

Perlakuan pada sampel A sebagai kontrol negatif, sampel B terlihat plasma dan darah belum sepenuhnya terpisah, sampel C sel eritrosit mulai mengendap dan mulai terbentuknya lapisan *buffy coat*, namun plasma belum tampak sepenuhnya jernih, sampel D dan E menunjukkan lapisan eritrosit, *buffy coat*, dan plasma dapat dibedakan tetapi sangat tipis, dan pada sampel E plasma lebih jernih. Hal ini menunjukkan proses sentrifugasi memiliki peran dalam pemisahan partikel zat terlarut dari zat pelarutnya [19]. Hasil gaya sentrifugal memiliki perbandingan lurus dengan kecepatan pemutaran pada mesin sentrifus. Semakin besar kecepatan pemutaran mesin sentrifus, akan menghasilkan pemisahan senyawa dalam campuran yang semakin besar menurut massa jenisnya [20].



Gambar 2. Hasil visualisasi elektroforesis sampel A, B, C, D, E. Keterangan: M : Marker, kode 1 : tanpa sentrifugasi, 2 : sentrifugasi 500 rpm, 3: sentrifugasi 1500 rpm, 4: sentrifugasi 3000 rpm, 5: sentrifugasi 4500 rpm.

Keberhasilan dalam melakukan isolasi DNA dapat dilihat dari uji kualitatif dan kuantitatifnya. Berdasarkan hasil uji kualitatif dengan proses elektroforesis dengan konsentrasi agarose 1% didapatkan hasil pada kode sampel A,B,C,D,E menunjukkan terbentuknya pita pada semua perlakuan tetapi dengan ketebalan yang berbeda-beda. Pita yang terlihat sangat jelas pada kode sampel A terletak pada kecepatan 3000 rpm, kode sampel B terletak pada kecepatan 1500 rpm dan 4500 rpm, kode sampel C terletak pada kecepatan 1500 rpm, kode sampel D terletak pada kecepatan 3000 rpm dan 4500 rpm, dan kode sampel E terletak pada kecepatan 1500 rpm dan 4500 rpm. Dari hasil tersebut menunjukkan pita yang terlihat jelas pada kecepatan sentrifugasi kisaran 1500 rpm sampai 4500 rpm.

Pita yang tipis pada gel agarosa dapat disebabkan karena rendahnya konsentrasi DNA. Hasil visualisasi fragmen DNA yang bagus pada gel agarosa yaitu menunjukkan pita yang tebal, tegas dan tidak ada smear (DNA yang tergradasi atau DNA tidak utuh) [15]. Adapun hal-hal yang dapat mempengaruhi hasil elektroforesis yaitu pemipetan sampel ke dalam sumuran, kemudian jenis sampel meskipun menggunakan jenis sampel yang sama dapat juga menunjukkan hasil yang berbeda, suhu yang tinggi juga dapat mengubah konformasi DNA menjadi tidak stabil [16].

Tabel 1. Hasil Spektrofotometer UV-Vis

Keterangan	Hasil rata-rata					Nilai standart	P value
	Tanpa sentrifugasi	Sentrifugasi 500 rpm	Sentrifugasi 1500 rpm	Sentrifugasi 3000 rpm	Sentrifugasi 4500 rpm		
Kemurnian	1,28	1,15	1,21	1,50	1,26	1,8-2,0	0,353
Konsentrasi	17,9	17,1	16,7	15,0	13,7	<50 ng/ μ L	0,558

Uji kuantitatif isolasi DNA menggunakan Spektrofotometer UV-Vis Thermo Scientific *double beam tipe evolution* 201 untuk mengukur kemurnian DNA dapat memanfaatkan rasio dari panjang gelombang 260 nm dan 280 nm. Hasil isolasi DNA bisa disebut murni, apabila memiliki nilai berkisar antara 1,8-2,0. DNA dapat dikatakan terkontaminasi RNA apabila nilainya lebih dari 2,0 sedangkan DNA dikatakan terkontaminasi protein atau phenol, apabila memiliki nilai dibawah 1,8 [15]. Hal ini dikarenakan RNA dan DNA terserap baik pada panjang gelombang 260, sedangkan protein, phenol dan kontaminan lainnya terserap pada panjang gelombang 280 [10]. Berdasarkan hasil perhitungan menunjukkan rata-rata nilai kemurnian sampel darah yang diisolasi menunjukkan nilai dibawah 1,8 yang mengindikasikan adanya kontaminasi protein, phenol, dan substansi lainnya dan hasil nilai konsentrasi juga menunjukkan nilai <50 ng/ μ L.

Hasil kemurnian dan konsentrasi DNA kemudian diuji secara statistik *one way* Anova dengan taraf signifikansi sebesar $\alpha=0,05$, yang menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan signifikan terhadap perlakuan variasi kecepatan sentrifugasi yang dilakukan. Hasil tersebut sejalan dengan penelitian yang menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan tingkat kemurnian sampel *whole blood* dengan *buffy coat*. Hal ini dapat dikarenakan dalam memperoleh sampel *buffy coat* juga memerlukan volume darah yang lebih banyak agar terbentuk lapisan *buffy coat* yang tebal [11], sedangkan dalam penelitian ini volume darah yang digunakan sebanyak 1 mL. Namun, terdapat penelitian yang menunjukkan adanya perbedaan hasil antara sampel *whole blood* dengan sampel *buffy coat*. Sampel yang disentrifugasi memiliki kemurnian dan konsentrasi yang tinggi dibandingkan dengan sampel darah tanpa sentrifugasi [10].

Penyebab dari rendahnya konsentrasi dan kemurnian DNA dapat dipengaruhi oleh merk kit reagen isolasi DNA, dimana setiap kit isolasi DNA memiliki kemampuan mengekstraksi DNA yang berbeda-beda, keterampilan dalam pemisahan supernatan dengan endapannya dalam penghilangan protein atau senyawa lainnya yang memungkinkan DNA yang berbobot tidak ikut terambil sehingga menyebabkan konsentrasi DNA yang terambil juga sedikit, sedangkan pada pengeringan pada tahap akhir isolasi DNA juga sangat memengaruhi hasil, jika pengeringan yang dilakukan kurang sempurna, maka larutan untuk memurnikan DNA seperti alkohol dan etanol dapat menurunkan nilai kemurnian DNA yang terkandung. Adapun penelitian menunjukkan sebagian besar sampel hasil isolasi DNA memiliki nilai kemurnian di bawah 1,8 atau lebih kecil yang mengindikasikan adanya kontaminasi fenol dan pelarut yang digunakan [17].

Selain itu dapat juga dipengaruhi oleh bahan kuvet. Umumnya bahan kuvet terbuat dari plastik dan kaca yang mampu tembus sinar. Kuvet yang terbuat dari bahan kaca silikat lebih baik digunakan pada spektrofotometer UV-Vis karena dinilai dapat menyerap sinar ultraviolet. Sedangkan kuvet yang digunakan dalam penelitian ini terbuat dari plastik sehingga dapat mempengaruhi pendaran dari cahaya yang masuk dan menembus sampel didalamnya [18]. Aspek yang dapat mempengaruhi juga dapat berasal dari aspek teknis seperti keterampilan peneliti dalam melakukan isolasi DNA, dimana pada tahap isolasi DNA metode column memiliki prosedur yang panjang sehingga peneliti harus meminimalisir kontaminan, seperti halnya dalam pengambilan sampel *buffy coat* yang sangat tipis, dan ketepatan dalam pemipetan reagen.

IV SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan terhadap sampel darah tanpa disentrifugasi, disentrifugasi kecepatan 500 rpm, 1500 rpm, 3000 rpm, dan 4500 rpm selama 5 menit pada pemeriksaan T2D berbasis molekuler. Namun kemurnian DNA yang tinggi didapatkan pada sampel darah dengan perlakuan sentrifugasi kecepatan 3000 rpm dan konsentrasi DNA tertinggi didapatkan pada sampel darah tanpa sentrifugasi.

V UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Dosen Pembimbing, Dosen Penguji, Staff Laboratorium Biomol, Responden penelitian, pihak Rumah Sakit Bhayangkara Pusdik Sabhara Porong serta teman-teman yang membantu dalam penelitian ini.

REFERENSI

- [1] U. Galicia-Garcia, A. Benito-Vicente, S. Jebari, A. Larrea-Sebal, H. Siddiqi, K. B. Uribe, H. Ostolaza, and C. Martín. "Pathophysiology of Type 2 Diabetes Mellitus". *International Journal of Molecular Sciences*, 21(17), 6275. 2020. Doi: <https://doi.org/10.3390/ijms21176275>.
- [2] R. A. Salasa, H. Rahman, and Andiani. "Faktor Risiko Diabetes Mellitus Tipe 2 Pada Populasi Asia: A Systematic Review". *Jurnal Biosainstek* 1(1), 95–107.2019. Doi:<https://doi.org/52046/biosainstek.v1i01.306>
- [3] Dinkes Jatim. "Profil Kesehatan 2021". 2021 Diakses dari :<https://dinkes.jatimprov.go.id/userfile/dokumen/PROFIL%20KESEHATAN%202021%20JATIM>.
- [4] T. Willmer, R. Johnson, J. Louw, and C. Pheiffer. "Blood-Based DNA Methylation Biomarkers for Type 2 Diabetes: Potential for Clinical Applications. *Frontiers in endocrinology*". 9, 744. 2018. Doi: <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00744>
- [5] S. M. Aghaei Zarc, M. D. Tezerjani, M. Talebi, and M. Y. V. Mehrjardi. "Molecular Biomarkers in Diabetes Mellitus (DM). *Medical journal of the Islamic Republic of Iran*, 34, 28. 2020. <https://doi.org/10.34171/mjiri.34.28>
- [6] S. S. Shams, S. Z. Vahed., F. Soltanzad, V. Kafil, A. Barzegari, S. Atashpaz, and J. Barar. "Highly Effective DNA Extraction Method From Fresh, Frozen, Dried and Clotted Blood Samples". *BioImpacts : BI*, 1(3), 183–187.2011. Doi: <https://doi.org/10.5681/bi.2011.025>
- [7] P. Guha, A. Das, S. Dutta, and T. K. Chaudhuri. "A Rapid And Efficient DNA Extraction Protocol From Fresh and Frozen Human Blood Samples". *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 32(1), e22181.2017. Doi: <https://doi.org/10.1002/jcla.22181>
- [8] M. Faatih. "Isolasi dan Digesti DNA Kromosom". *Jurnal Penelitian Sains & Teknologi* 10 (1), 61 - 67.2009.Diakses dari: <https://publikasiilmiah.ums.ac.id/bitstream/handle/11617/432/7.%20FATIH.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- [9] J. H. Ginkel, Broek, D. A. Kuik, J. D Linders, R. de Weger, S.M. Willems, and M. M. H. Huibers. "Preanalytical Blood Sample Workup For Cell-Free DNA Analysis Using Droplet Digital PCR For Future Molecular Cancer Diagnostics". *Cancer medicine*, 6(10), 2297–2307.2017. Doi: <https://doi.org/10.1002/cam4.1184>
- [10] A. C. Wardana, and M Mushlih. "Comparison The Quality Of Template DNA Isolated By Column Method With and Without Centrifugation". *Indonesian Journal of Innovation Studies*, 15, 10-21070.2021.
- [11] J. E. Siswanto, T. Berlian, E. Putricahya, L. V. Panggalo, and L. Yuniani "Isolasi DNA pada Sampel Darah Tepi dan Swab Buccal pada Bayi Penderita ROP: Perbandingan Hasil Uji Konsentrasi dan Indeks Kemurnian". *Sari Pediatri*,18(4), 270. 2017. Doi: <https://doi.org/10.14238/sp18.4.2016.270>
- [12] J. L. Sherwood, C. Corcoran, H. Brown, A. D. Sharpe, M. Musilova, and A. Kohlmann. "Optimised Pre-Analytical Methods Improve KRAS Mutation Detection in Circulating Tumour DNA (ctDNA) from Patients with Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC)". *PloS one*, 11(2), e0150197. 2016. Doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0150197>
- [13] Permenkes. "Cara Penyelenggaraan Laboratorium Klinik yang Baik". 2013.
- [14] L. Rosita, A. A. C. Pramana, and F. R. Arfira."Hematologi Dasar". 2019. Diakses dari <https://dspace.uin.ac.id/bitstream/handle/123456789/33788/978-602-450-371-0.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- [15] S. Sundari, and B. Priadi. "Teknik Isolasi dan Elektroforesis DNA Ikan Tapah. *Buletin Teknik Litkayasa Akuakultur*", 17(2), 87-90.2020.
- [16] M. Mushlih. "Aplikasi Dasar Di Dunia Kesehatan". *Umsida Press*, 1-66.2019. Doi: <https://doi.org/10.21070/2019/978-623-6081-07-5>

- [17] N. Triani. "Isolasi DNA Tanaman Jeruk dengan Menggunakan Metode CTAB (Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide). *G-Tech: Jurnal Teknologi Terapan*, 3(2), 221-226.2020.
- [18] P. A. Dewanata, and M. Mushlih. "Differences In DNA Purity Test Using UV-Vis Spectrophotometer And Nanodrop Spectrophotometer In Type 2 Diabetes Mellitus Patients". *Indonesian Journal of Innovation Studies*, 15, 10-21070.2021.
- [19] A. Pascawinata, A. Andriansyah, and R. Bismanevi. "Pengaruh Kecepatan dan Lama Waktu Sentrifugasi Darah Terhadap Jumlah Trombosit pada Proses Pembuatan platelet Rich Fibrin. *B-Dent: Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Baiturrahmah*, 8(3), 285–292.2021. <https://doi.org/10.33854/jbd.v8i3.604>
- [20] Tejasari, and F. Zakaria. "Senyawa Bioaktif Rimpang Jahe (*Zingiber officinale roscae*) Meningkatkan Respon Sitolitik Sel Nk Terhadap Sel Kanker Darah K-562 In Vitro". *Jurnal Teknoogi dan Industri Pangan*, 18(2). 2006. Diakses dari: <https://journal.ipb.ac.id/index.php/jtip/article/view/424>

Conflict of Interest Statement:

The author declares that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.