



MODIFIKASI METODE ISOLASI DNA CETYL TRIMETHYLAMMONIUM BROMIDE (CTAB) UNTUK SAMPEL EPITEL PIPI MANUSIA

Maharani Pertiwi Koentjoro^{1*}, Hidayah Sri Wilujeng¹, Astrina Dilla¹, Endry
Nugroho Prasetyo²

¹D4 Analis Kesehatan, Universitas Nahdlatul Ulama Surabaya, Jawa Timur, Indonesia

²Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Analitika Data, Institut Teknologi Sepuluh
Nopember, Jawa Timur, Indonesia
e-Mail : maharani@unusa.ac.id

Abstract

Isolation of deoxyribonucleotide (DNA) is an important step in molecular analysis. In this process, DNA must be obtained in sufficient quantities and in good quality for any further analysis. The Cetyl Trimethylammonium Bromide (CTAB) method is commonly used in DNA isolation of plant or fungal. This method is an alternative in DNA isolation since it is easy and inexpensive. This study aims to modify the CTAB method for DNA isolation from human cheek epithelium for any molecular analysis. Epithelial cells were taken from the oral cavity of the researcher. The isolation protocol included cell lysis step with CTAB buffer and proteinase-K, purification step with the addition of chloroform:isoamylalcohol (24:1), precipitation step with isopropanol. The results of the ratio analysis of DNA spectrophotometer at wavelengths of 260 and 280 nm in the range of 1.73-1.85. The quality of DNA isolation was observed by agarose gel electrophoresis and a firm band was obtained after Ethidium Bromide staining. The DNA concentration in both methods ranged from 400-480 µg/µL. The time required for both methods ranges from 2.5-3 hours. The modified CTAB method DNA isolation protocol produces DNA that has good quality and quantity for molecular analysis processes, such as Polymerase Chain Reaction (PCR).

Keywords: Cetyl Trimethylammonium Bromide, deoxyribonucleotide, DNA isolation, epithelial

Abstrak

Isolasi deoksiribonukleotida (DNA) merupakan tahap penting dalam analisis molekuler. DNA harus didapatkan dalam jumlah cukup dan kualitas baik agar proses analisis selanjutnya berjalan dengan baik. Metode Cetyl Trimethylammonium Bromide (CTAB) umum digunakan dalam isolasi DNA tanaman atau jamur. Metode ini menjadi salah satu alternatif dalam isolasi DNA karena mudah dan murah. Tujuan penelitian adalah modifikasi metode CTAB untuk isolasi DNA dari sampel epitel pipi manusia agar dapat digunakan dalam analisis molekuler. Sel epitel diambil dari rongga mulut peneliti. Protokol isolasi meliputi tahap lisis sel dengan buffer CTAB dan proteinase-K, tahap purifikasi dengan penambahan khloroform:isoamylalcohol (24:1), tahap presipitasi dengan isopronanol. Hasil rasio analisis spektrofotometer DNA hasil isolasi pada panjang gelombang 260 dan 280 nm pada kisaran 1.73-1.85. Kualitas hasil isolasi DNA diamati dengan elektroforesis gel agarose dan didapatkan pita yang tegas setelah pewarnaan Ethidium Bromida. Konsentrasi DNA pada kedua modifikasi metode berkisar antara 400-480 µg/µL. Waktu yang diperlukan untuk kedua metode berkisar antara 2.5-3 jam. Protokol isolasi DNA metode CTAB yang dimodifikasi menghasilkan DNA yang memiliki kualitas dan kuantitas yang cukup baik untuk proses analisis molekuler, seperti Polymerase Chain Reaction (PCR).

Kata Kunci : Cetyl Trimethylammonium Bromide, deoksiribonukleotida, epitel, isolasi DNA

PENDAHULUAN

Diagnosis molekuler merupakan cabang kedokteran laboratorium atau patologi klinis yang memanfaatkan teknik biologi molekuler untuk mendiagnosis penyakit, memprediksi perjalanan penyakit, memilih terapi, dan memantau efektivitas terapi (Dwivedi dkk., 2017; Orakpoghenor dan Markus, 2020). Diagnosis molekuler telah digunakan secara luas dalam bidang laboratorium medis, seperti deteksi adanya invasi patogen atau perubahan mutasi genetik pada suatu individu, pembuatan vaksin dan penemuan obat. Diagnostik molekuler, seperti multiplex real-time *Polymerase Chain Reaction* (PCR), telah menggantikan kultur sel, deteksi antigen-antibodi fluoresen, dan metodologi deteksi antigen karena memiliki sensitivitas dan spesifisitas tinggi, prosedur kontrol kualitas yang sangat baik, dan mendeteksi sejumlah besar virus dan bakteri patogen dengan cepat (Oh dkk, 2014; Sokolenko dan Imyanitov, 2018; Koentjoro dkk., 2021).

Di Indonesia, diagnostik molekuler digunakan dalam laboratorium medis antara lain untuk identifikasi penyakit menular, genetika, farmakogenomik, dan onkologi (Dewantoro dkk, 2020). Dalam tes genetika, asam deoksiribonukleat (DNA) akan dianalisis dan diidentifikasi apakah memiliki kelainan atau perubahan urutan basa nuklotida (sekuens) yang dapat memicu kanker. DNA merupakan molekul yang mengkode semua karakter fenotip maupun genotip suatu organisme. DNA berisi semua informasi yang diperlukan untuk kehidupan suatu organisme. Informasi perubahan dalam DNA dapat digunakan untuk memberikan terapi yang tepat (García-Muse dan Aguilera, 2018).

Tahapan penting dalam diagnosis molekuler adalah isolasi DNA, yaitu memurnikan asam nukleat dan menghilangkan makromolekul dalam sel yang dapat menghambat proses PCR (Abrams dkk, 2018). Pada sel manusia, DNA terdapat di nukleus (inti sel) dan sebagian kecil berada di mitokondria. DNA harus diperoleh dalam kualitas yang baik dan kuantitas yang cukup

untuk

analisis selanjutnya (Mayta dkk, 2019). Umumnya, isolasi DNA dilakukan dengan menggunakan kit ekstraksi komersial. Penggunaan kit ini umumnya lebih disukai karena waktu pengerjaan cepat, tetapi harganya yang mahal dan dapat menghasilkan limbah kontaminan dalam jumlah besar, seperti manik-manik, filter, kolom, dan tabung mikrosentrifugasi (Farnoosh dkk., 2013).

Salah satu alternatif metode isolasi DNA secara konvensional adalah *Cetyl Trimethylammonium Bromide* (CTAB). Metode ini digunakan umumnya untuk isolasi DNA dari sel tanaman atau jamur. Metode CTAB dilaporkan mudah untuk digunakan dengan harga reagen yang lebih ekonomis (Heikrujam dkk, 2020). Beberapa studi menyebutkan metode CTAB lebih baik digunakan untuk isolasi DNA karena memiliki tingkat kemurnian yang tinggi dan jumlah yang dihasilkan lebih banyak (Kumar dkk, 2021).

Penelitian ini bertujuan untuk mengoptimasi metode CTAB dalam isolasi DNA dari sel epitel manusia. Parameter optimasi yang dianalisis meliputi konsentrasi dan kualitas DNA tertinggi. Penelitian ini menggunakan sampel sel epitel pipi karena merupakan salah satu sampel sumber bahan biologis yang mudah diakses untuk studi genetika, genotoksisitas, epigenetik, proteomik, metabolomik, dan mikrobioma. Sampel epitel mudah untuk diambil, waktu pengerjaan cepat, non-invasif, dan berbiaya rendah dibandingkan dengan sampel lain, seperti darah.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler, Fakultas Kesehatan, Universitas Nahdlatul Ulama Surabaya (Indonesia) pada bulan Januari-Februari 2021. Bahan yang digunakan adalah buffer TE (Tris EDTA 50 mM, pH 0.8); 10 mg/mL Proteinase-K (Sigma Aldrich, CAS 39450-01-6); Buffer CTAB (komposisi: CTAB 2% (w/v) (HIMEDIA M101); Tris-HCl 0.1 M, pH 8.0; EDTA

0.5 M, pH 8.0, NaCl 1.4 M; β -Mercaptoethanol 0.2 % (v/v)), SDS 10%; chloroform; isoamyl-alcohol; isopropanol; ethanol; agarose; Ethidium Bromida (EtBr);

Buffer Tris Acetate EDTA (TAE) 1X (komposisi: Tris 40 mM, acetic acid 20 mM dan EDTA 1 mM); larutan isotonik (komposisi 0.9% NaCl dan 5% sukrosa); dan lactophenol blue. Sampel sel epitel pipi dalam penelitian ini berasal dari rongga mulut tim peneliti.

Metode CTAB merupakan modifikasi dari Kumar dkk (2012). Isolasi DNA dimulai dari mengambil sampel epitel di rongga mulut menggunakan batang es krim steril. Sebelum proses pengambilan sampel, subjek melakukan sikat gigi dan berkumur dengan air. Batang kayu digosokkan ke dalam rongga mulut dengan gerakan memutar sebanyak 3 kali di bagian kiri dan kanan. Selanjutnya, sebanyak 15 mL larutan isotonik di masukan ke dalam mulut untuk digunakan sebagai berkumur. Hasil bilasan kumur selanjutnya ditampung dalam pot steril dan dilakukan panen sel epitel. Untuk memastikan sel epitel telah diperoleh, maka pengamatan mikroskopis dilakukan dengan mengambil sampel bilasan kumur menggunakan jarum ose ujung bulat dan dioleskan pada kaca gelas objek. Selanjutnya, sebanyak 1 tetes lactophenol blue diteteskan ke dalam kaca gelas objek dan ditutup dengan *cover glass*. Pengamatan sel epitel pipi dilakukan pada Mikroskop Binokular Olympus CX 23 dengan perbesaran 100X.

Isolasi DNA pada penelitian ini menggunakan metode CTAB yang dimodifikasi (Gambar 1.). Modifikasi I yaitu dimulai dari tahap panen sel epitel. Sebanyak 1 mL bilasan kumur dimasukkan ke dalam tabung Eppendorf steril dan disentrifugasi pada kecepatan 4.000 rpm selama 5 menit. Supernatan yang dihasilkan selanjutnya dibuang dan pelet dilarutkan ke dalam 567 μ L buffer TE. SDS 10% dan Proteinase-K ditambahkan masing-masing sebanyak 20 μ L ke dalam suspensi. Suspensi di vortex dengan kecepatan tinggi selama 30 detik dan diinkubasi selama 1 jam pada suhu 37°C. Sebanyak 6 μ L NaCl 5 M dan 600 μ L buffer CTAB dimasukkan ke dalam suspensi. Tabung

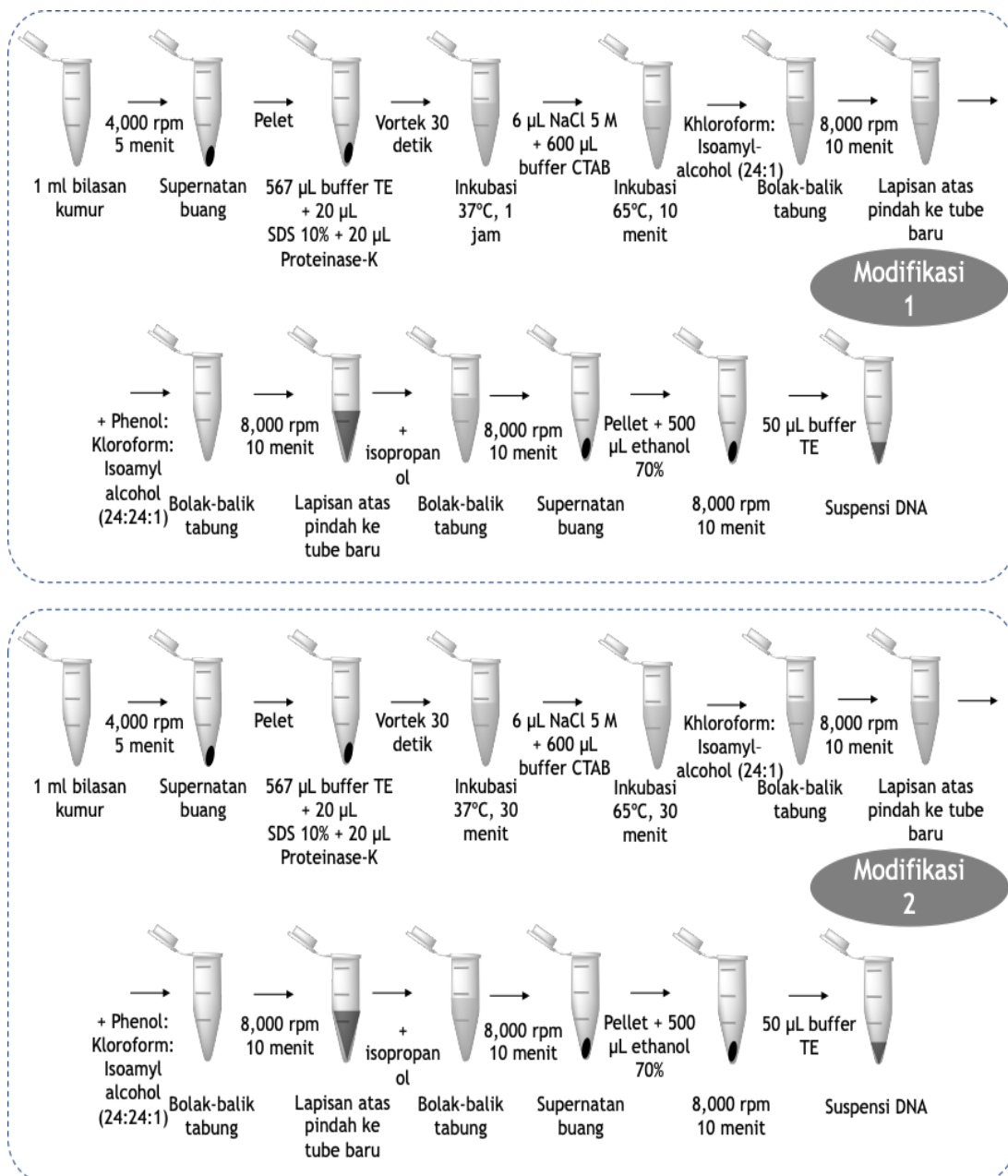
Eppendorf selanjutnya diinkubasi selama 10 menit pada suhu 65°C. Khloroform: Isoamyl-alcohol (24:1) ditambahkan ke dalam suspensi sebanyak volume larutan sampel (1:1) dan dihomogenkan dengan cara membalik-balikkan tabung selama 10 kali. Tabung

selanjutnya disentrifus pada kecepatan 8.000 rpm selama 10 menit. Lapisan paling atas supernatan dipindah ke dalam tabung Eppendorf baru dan ditambahkan Phenol: Kloroform: Isoamyl alcohol (24:24:1) sebanyak volume larutan. Suspensi dihomogenkan dengan membalik-balikkan tabung selama 10 kali dan disentrifus pada kecepatan 8.000 rpm selama 10 menit. Lapisan paling atas supernatan di ambil dan dipindahkan ke dalam tabung Eppendorf baru serta ditambahkan isopropanol sebanyak 0.6 kali volume larutan. Tabung disentrifus pada kecepatan 8.000 rpm selama 10 menit. Supernatan dibuang dan pelet dicuci dengan 500 µL ethanol 70% dingin. Tabung disentrifus pada kecepatan 8.000 rpm selama 10 menit. Supernatan dibuang dan pelet yang didapat kemudian dikering-anginkan sampai tidak ada alkohol yang tersisa. DNA direhidrasi dengan penambahan 50 µL buffer TE. Suspensi DNA selanjutnya disimpan dalam suhu -20°C.

Modifikasi II pada penelitian ini dimulai dari pengambilan 1 mL bilasan kumur dan dipindahkan ke dalam tabung Eppendorf steril. Tabung disentrifugasi pada kecepatan 4.000 rpm selama 5 menit. Supernatan dibuang dan pelet diresuspensi ke dalam 567 µL buffer TE, 20 µL SDS 10% dan 20 µL Proteinase-K. Suspensi di vortex dengan kecepatan tinggi selama 30 detik dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C. Sebanyak 6 µL NaCl 5 M dan 600 µL buffer CTAB ditambahkan ke dalam suspensi. Tabung Eppendorf selanjutnya diinkubasi selama 30 menit pada suhu 65°C. Khloroform: Isoamyl-alcohol (24:1) ditambahkan ke dalam suspensi sebanyak volume larutan sampel (1:1) dan dihomogenkan dengan cara membalik-balikkan tabung selama 10 kali. Tabung selanjutnya disentrifus pada kecepatan 8.000 rpm selama 10 menit. Lapisan paling atas supernatan dipindah ke dalam tabung Eppendorf baru dan

ditambahkan Phenol: Kloroform: Isoamyl alcohol (24:24:1) sebanyak volume larutan. Suspensi dihomogenkan dengan membalik-balikkan tabung selama 10 kali dan disentrifus pada kecepatan 8.000 rpm selama 10 menit. Lapisan paling atas supernatan di ambil dan dipindahkan ke dalam tabung Eppendorf baru

serta ditambahkan isopropanol sebanyak 1 kali volume larutan. Tabung disentrifus pada kecepatan 8.000 rpm selama 10 menit. Supernatan dibuang dan pelet dicuci dengan 500 μ L ethanol 70% dingin. Tabung disentrifus pada kecepatan 8.000 rpm selama 10 menit. Supernatan dibuang dan pelet yang didapat kemudian dikering-anginkan sampai tidak ada alkohol yang tersisa. DNA direhidrasi dengan penambahan 50 μ L buffer TE. Suspensi DNA selanjutnya disimpan dalam suhu -20°C .



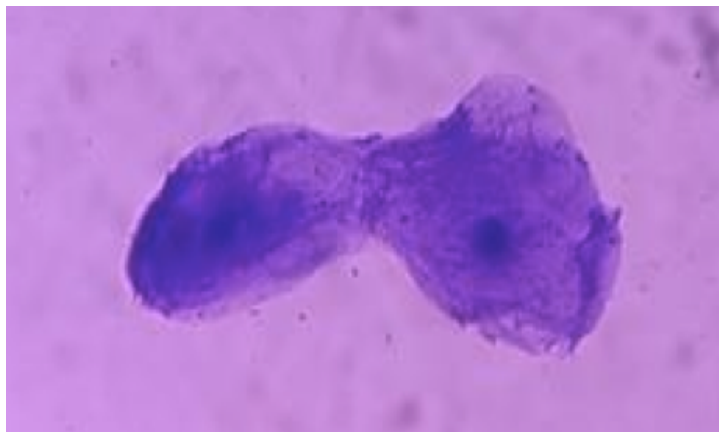
Gambar 1. Diagram alur isolasi DNA modifikasi Cetyl Trimethylammonium Bromide (CTAB)

Uji kualitas (kemurnian) dan kuantitas (konsentrasi) DNA dilakukan menggunakan spektrofotometer (Genesys 10S UV-Vis Spectrophotometer, Thermo Scientific). Konsentrasi dihitung dengan rumus: $[DNA] = A_{260} \times 50 \times \text{faktor pengenceran}$. A_{260} = nilai absorbansi pada panjang gelombang (λ) 260 nm; 50 = larutan dengan nilai absorbansi 1.0 sebanding dengan 50 µg untai ganda DNA per mL. Kemurnian DNA diketahui dengan membandingkan rasio

absorbansi (OD) pada panjang gelombang 260 dan 280 (Sambrook dkk., 1989). Analisis kualitas dilanjutkan dengan memasukkan 3 μL sampel DNA pada gel agarosa 0.8% dan melakukan elektroforesis pada arus konstan 70 V selama 90 menit. Gel kemudian direndam dalam larutan Etidium Bromide. Visualisasi sampel DNA bawah sinar ultraviolet (TI UV, Avegene). Analisis dilakukan secara deskriptif dengan membandingkan hasil uji kualitatif dan kuantitatif DNA.

HASIL

Hasil pengambilan sampel epitel pipi diamati secara makroskopis untuk menyakinkan bahwa sel epitel telah diambil dengan baik. Gambar 2 menyajikan pengamatan sel epitel pipi menggunakan mikroskop cahaya pada perbesaran 100X.



Gambar 2. Sel epitel pipi pada permukaan rongga mulut (perbesaran 100X)

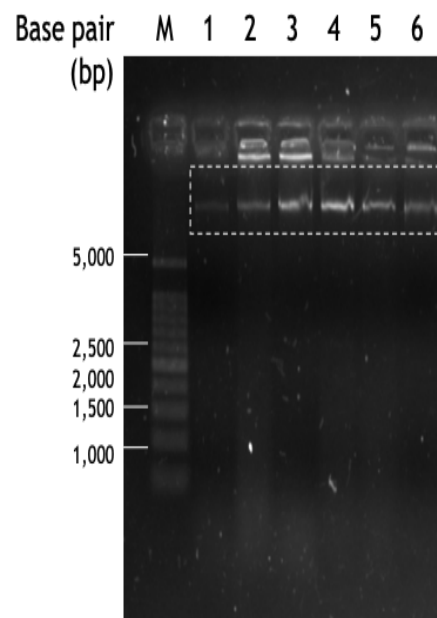
Sel epitel yang didapat selanjutnya diisolasi DNA nya menggunakan dua modifikasi metode CTAB, yaitu modifikasi I dan II. Masing-masing metode dilakukan 3 kali ulangan. Efisiensi kedua metode dalam menghasilkan DNA yang murni disajikan dalam Tabel. 1. Metode CTAB modifikasi I menghasilkan rata-rata rasio absrobansi $\lambda_{260/280}$ sebesar 1.74 dan konsentrasi 413 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$. Metode CTAB modifikasi II memiliki nilai rata-rata absorbansi 1.82 dan konsentrasi konsentrasi 453 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$

Tabel 1. Hasil uji kualitatif DNA dengan metode CTAB modifikasi

Sampel*	Modifikasi I		Modifikasi II	
	$\lambda_{260/280}$	Konsentrasi DNA ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$)	$\lambda_{260/280}$	Konsentrasi DNA ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$)
1	1.73	400	1.81	450
2	1.75	430	1.85	480
3	1.74	410	1.79	430

*) ulangan 1, 2 dan 3

Selanjutnya, DNA hasil isolasi diuji kualitasnya menggunakan elektroforesis gel agarose. Gambar 3. menyajikan seluruh hasil isolasi DNA menunjukkan pita yang tegas dan tajam. Hasil ini diinterpretasikan bahwa DNA memiliki kualitas yang baik dan tidak mengalami denaturasi.



Gambar 3. Hasil elektroforesis isolasi DNA sel epitel pipi menggunakan CTAB modifikasi I (baris 1, 2, 3) dan modifikasi II (baris 3, 4, 5) pada gel agarosa 0.8 %. M: Penanda berat molekul 250 bp (Genesta™ DNA Ladder).

DISKUSI

Hasil isolasi DNA dengan kualitas baik dan kuantitas tinggi diperlukan untuk proses diagnosis molekuler (Lázaro-Silva dkk, 2015). Berbagai metode isolasi DNA telah dikembangkan, termasuk kit komersial. Tetapi, salah satu metode konvensional dalam isolasi DNA yang masih dapat digunakan adalah CTAB. Awalnya, metode CTAB digunakan untuk isolasi DNA dari daun tanaman.

Pada perkembangannya, metode CTAB telah dimodifikasi kali untuk sampel lain, seperti jamur dan bakteri (Kumar dkk, 2012). Pada penelitian ini, metode CTAB dimodifikasi untuk dapat digunakan sebagai protokol dalam isolasi DNA dari sel epitel manusia.

Kemurnian atau kualitas DNA diukur dengan spektrofotometer dalam kisaran 1.8-2.0 pada λ 260/280 nm (Sambrook et al., 1989). Kuantifikasi DNA modifikasi II menunjukkan peningkatan kualitas DNA dibanding dengan modifikasi I (Tabel 1). Hasil isolasi DNA metode CTAB modifikasi II pada penelitian ini memiliki nilai diantara 1.8 dan 2. Hal ini menandakan DNA hasil isolasi cukup murni dan mengandung sedikit molekul pencemar, seperti protein dan fenol. Berdasarkan hasil penelitian ini, metode CTAB modifikasi II dapat menjadi alternatif isolasi DNA meskipun diketahui membutuhkan waktu pengerjaan lebih panjang. Hasil DNA keseluruhan berada dalam kisaran 400-480 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$. Jumlah ini telah mencukupi untuk syarat konsentrasi DNA yang diperlukan dalam proses PCR, yaitu, 200 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ per reaksi.

Hasil elektroforesis gel agarose menunjukkan pola pita yang jelas dan tajam, serta tidak mengumpul. Hal ini menunjukkan bahwa proses isolasi berjalan dengan baik.

Perbedaan mendasar pada metode CTAB modifikasi I dan II adalah waktu inkubasi pada lisis sel. Pada metode CTAB modifikasi I, masa inkubasi lebih panjang pada penambahan buffer TE, SDS 10% dan Proteinase-K. Pada tahap ini, SDS dan Proteinase-K berperan sebagai agen proteolitik, yaitu

mendenaturasi protein dalam membrane sel (Besingi dan Clark, 2015). Penambahan Proteinase-K sebagai agen proteolitik digunakan oleh Qamar et al., (2017) untuk isolasi DNA dari sampel darah. Proteinase K dalam penelitian ini ditambahkan ke dalam buffer ekstraksi (CTAB) untuk menonaktifkan nuklease dan membantu hidrolisis epitel sehingga melepaskan DNA yang berada di inti sel. Nuklease perlu di nonaktifkan agar mempertahankan DNA sehingga dapat diisolasi dan dipurifikasi. Proteinase K aktif pada rentang pH

yang luas (4-12,5) (Shi dkk, 2002).

Pada metode CTAB modifikasi II, waktu inkubasi suspensi sel setelah penambahan buffer TE, SDS 10% dan Proteinase-K dengan NaCl 5 M dan buffer CTAB adalah 30 menit. Pada metode ini, kualitas dan kuantitas DNA didapatkan relative lebih baik dibanding dengan CTAB modifikasi I. Penambahan NaCl untuk membantu proses denaturasi dan presipitasi protein. Sedangkan CTAB merupakan deterjen kationik yang memiliki sifat untuk mengendapkan asam nukleat dan polisakarida asam dari larutan dengan kekuatan ion rendah. Dalam kondisi ini, protein dan polisakarida netral tetap dalam larutan. Dalam larutan dengan kekuatan ion tinggi, CTAB membentuk kompleks dengan protein dan semua kecuali polisakarida yang paling asam, tetapi tidak akan mengendapkan asam nukleat (Afshar-Mohammadia dkk, 2018).

Hasil modifikasi metode CTAB menunjukkan hasil yang menjanjikan untuk dapat diaplikasikan di laboratorium medis, khususnya molekuler. Beberapa hal yang perlu diperhatikan untuk memaksimalkan kuantitas dan kualitas yaitu sampel epitel harus diperoleh dalam jumlah yang cukup. Sebelum sampel diambil, subjek diminta untuk membersihkan rongga mulut agar tidak banyak kotoran yang ada di dalam pelet. Pada proses pencucian pelet dengan ethanol 70%, yang dilanjutkan dengan tahap penguapan harus benar-benar kering. Hal ini dikarenakan sisa ethanol dalam DNA dapat mengganggu bahkan menghambat proses amplifikasi DNA seperti dalam reaksi PCR (Jue dkk, 2020).

KESIMPULAN

Dalam penelitian ini, dua metode CTAB dimodifikasi untuk isolasi DNA dari sel epitel pipi. Hasil uji kualitas DNA memiliki penyerapan maksimum pada λ_{260} dan protein memiliki penyerapan maksimum pada λ_{280} . Sehingga, produk dari kedua metode isolasi DNA tersebut dapat digunakan untuk analisis

molekuler selanjutnya.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih disampaikan kepada Universitas Nahdlatul Ulama Surabaya yang telah mendukung penelitian ini berjalan dengan baik.

KONFLIK KEPENTINGAN

Penulis menyatakan bahwa hasil penelitian dan publikasi ini tidak memiliki konflik kepentingan.

REFRENSI

- Abras, A., Ballart, C., Llovet, T., Roig, C., Gutiérrez, C., Tebar, S., Berenguer, P., Pinazo, M. J., Posada, E., Gascón, J., Schijman, A. G., Gállego, M., Muñoz, C. (2018) Introducing automation to the molecular diagnosis of *Trypanosoma cruzi* infection: A comparative study of sample treatments, DNA extraction methods and real-time PCR assays. *PLoS One*, 13(4):e0195738.
- Afshar-Mohammadia, M., Rezadoost, M. H., Fallah, S. F. (2018). Comparative analysis and innovation of a simple and rapid method for high-quality RNA and DNA extraction of kiwifruit. *MethodsX*, 5: 352-361.
- Besingi, R. N, Clark, P. L. (2015). Extracellular protease digestion to evaluate membrane protein cell surface localization. *Natural Protocol*, 10(12): 2074-2080.
- Dewantoro, A., Anngundari, W. C., Nuraeni, U., Prasetya, B., Yopi. (2020). Metode deteksi molekuler berbasis genomik dan diagnostik akurasinya dalam pengembangan diagnostik klinik di Indonesia. *Prosiding PPJS*, 207-216.
- Dwivedi, S., Purohit, P., Misra, R., Pareek, P., Goel, A., Khattri, S., Pant, K. K., Misra, S., Sharma, P. (2017). Diseases and Molecular Diagnostics: A Step Closer to Precision Medicine. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 32: 374-398.
- Farnoosh, G. R., Hassanpour, K., Taheri, R. A., Ghamgosha, M., Sani, M. R. M., Mellat, M. (2013). Comparison of three different DNA extraction methods from positive smears prepared from lesions of patients with cutaneous

- leishmaniasis. *Pelagia Research Library*, 3(6): 212-214.
- García-Muse, T., Aguilera, A. (2007). DNA Strand Break Repair and Human Genetic Disease. *Annual Review of Genomic and Human Genetics*, 8: 37.
- Heikrujam, J., Koshor, R., Mazumder, P. B. (2020). The chemistry behind plant DNA isolation protocols. DOI: 10.5772/intechopen.92206.
- Jue, E., Witters, D., Ismagilov, R. F. (2020). Two-phase wash to solve the ubiquitous contaminant-carryover problem in commercial nucleic-acid extraction kits. *Scientific Reports*, 10: 1940.
- Koentjoro, M. P., Rahayu, D. S., Donastin, A., Prasetyo, E.N. (2021). Evaluation of *Mycobacterium tuberculosis* ripA gene to detect antibiotic resistance. *Journal of Physics: Conference Series*, 1918(5): 052021.
- Kumar, M. S., Kaur, G., Sandhu, A. K. (2012). Genomic DNA isolation from fungi, algae, plant, bacteria and human blood using CTAB. *International Journal of Science and Research*, 3(9): 617-618.
- Lázaro-Silva, D. N., De Mattos, J. C. P., Castro, H. C., Alves, G. G., Amorim, L. M. F. (2015). The Use of DNA extraction for molecular biology and biotechnology training: a practical and alternative approach. *Creative Education*, 6: 762-772.
- Mayta, H., Romero, Y. K., Pando, A., Verastegui, M., Tinajeros, F., Bozo, R., Henderson-Frost, J., Colanzi, R., Flores, J., Lerner, R., Bern, C., Gilman, R. H. (2019). Improved DNA extraction technique from clot for the diagnosis of Chagas disease. *PLoS Neglected Tropical Disease*, 13(1): e0007024.
- Oh, S. Y., Han, J. Y., Lee, S. R., Lee, H.T. (2014). Improved DNA extraction method for molecular diagnosis from smaller numbers of cells. *Korean Journal of Clinical Laboratory Science*, 46(3): 99-105.
- Orakpoghenor, O., Markus, T.P. (2020). Diagnostic technique in molecular biology - An overview. *MedRead Journal of Family*, 1(2): 1008.
- Pang, S-W., Awi, N. J., Armon, S., Lim, W. W. D., Low, J. S. H., Peh, K. B., Teow, S. Y. (2020). Current update of laboratory molecular diagnostics advancement in management of Colorectal Cancer (CRC). *Diagnostics*, 10: 9.
- Sambrook, J., Fritsch, E.F., Maniatis, T. (1989). *Molecular cloning: a laboratory manual*. USA: Cold Spring harbor Lab Press.
- Shi, S.R., Cote, R.J., Wu, L., Liu, C., Datar, R., Shi, Y., Liu, D., Lim, H., Taylor, C.R. (2002). DNA Extraction from archival formalin-fixed paraffin-embedded tissue sections based on the antigen retrieval principle: heating under the influence of pH. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 50:1005-1011.
-

Sokolenko, A. P., Imyanitov, E. N. (2018). Molecular Diagnostics in Clinical Oncology. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 5(76): doi:10.3389/fmolb.2018.00076.
