



Received 30th July 2018
Accepted 11th December 2018
Published 31st August 2019

Open Access

DOI: 10.35472/jsat.v3i1.111

Ekstraksi DNA total dari sumber jaringan hewan (Ikan Kerapu) menggunakan metode *kit for animal tissue*

Yanti Ariyanti ^a, Sister Sianturi ^b

^a Program Studi Biologi, Jurusan Sains, Institut Teknologi Sumatera, Lampung Selatan 35365, Indonesia

^b Program Studi Farmasi, Institut Sains dan Teknologi Nasional, Jakarta Selatan 12630, Indonesia

* Corresponding E-mail: yanti.ariyanti@bi.itera.ac.id

Abstract: DNA extraction is a series of processes to separate DNA from other cell components. Extraction is the most crucial early stage in molecular research. There are two methods in DNA extraction: traditional organic extraction and non-organic adoption extraction method. Traditional organic extraction method are used by many laboratories to obtain amount of high-yield DNA. However, in recent years it has been a tendency to adopt non-organic commercial protocols, known as extraction kit. This method was relatively faster, low times-consuming and avoid the toxicity due to phenol use. This study aims to determine the steps of DNA extraction to obtain total DNA from muscle tissue of fish grouper using Extraction Kit for Animal Tissue. The Kit extraction method has an advantages that is the processing time is shorter, simple, non-toxic and high-purity DNA yields. A total of 4 tissue samples from grouper muscle were successfully extracted using an Extraction Kit that was indicated by the visualization of the band on qualitative DNA analysis in 1% agarose gel.

Keywords: DNA extraction, extraction kit, high-yield DNA, molecular method

Abstrak: Ekstraksi DNA adalah serangkaian proses untuk memisahkan DNA dari komponen sel lainnya. Ekstraksi merupakan tahap awal yang paling penting dalam penelitian molekuler. Secara umum terdapat dua metode dalam ekstraksi DNA: ekstraksi organik tradisional dan metode ekstraksi adopsi non-organik. Metode ekstraksi organik tradisional digunakan oleh banyak laboratorium untuk memperoleh panen DNA dengan hasil yang tinggi. Namun, dalam beberapa tahun terakhir telah menjadi kecenderungan untuk mengadopsi protokol komersial non-organik, yang dikenal sebagai kit ekstraksi. Metode ini relatif lebih cepat, hemat waktu dan menghindari toksisitas karena penggunaan fenol. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan langkah-langkah ekstraksi DNA untuk mendapatkan DNA total dari jaringan otot ikan kerapu menggunakan Kit Ekstraksi untuk Jaringan Hewan. Metode ekstraksi Kit memiliki kelebihan yaitu waktu pemrosesan yang lebih singkat, sederhana, tidak beracun dan panen DNA dengan kemurnian tinggi. Sebanyak 4 sampel jaringan dari otot kerapu berhasil diekstraksi menggunakan Kit Ekstraksi yang ditunjukkan oleh visualisasi pita pada analisis DNA kualitatif dalam gel agarosa 1%.

Kata Kunci: analisis kualitatif, analisis kuantitatif, ekstraksi DNA, kit ekstraksi

Pendahuluan

Ekstraksi DNA merupakan serangkaian proses untuk memisahkan DNA dari komponen-komponen sel lainnya. Ekstraksi merupakan tahap awal yang paling penting dalam penelitian molekuler [1]. Secara umum proses ekstraksi meliputi penghancuran membran sel menggunakan Sodium Dodesil Sulphate (SDS)/ sejenis detergen, penghilangan protein dan RNA menggunakan Proteinase K & RNase, pengendalian DNA, dan pemanenan DNA.

Kualitas DNA yang dihasilkan sangat penting untuk menentukan teknik molekuler selanjutnya, sehingga diperlukan metode ekstraksi yang tepat untuk memperoleh DNA dari berbagai sumber jaringan [1]. Ketepatan metode yang dilakukan sangat mempengaruhi kualitas DNA yang dihasilkan. Menurut Fan dan Gulley [2] terdapat dua metode dalam ekstraksi DNA yaitu metode ekstraksi tradisional organik (manual) dan metode ekstraksi adopsi non-organik. Metode ekstraksi tradisional organik digunakan oleh banyak laboratorium untuk mendapatkan jumlah molekul DNA yang tinggi. Namun, dalam beberapa tahun terakhir



telah terjadi kecenderungan adopsi protokol komersial non-organik, dikenal dengan sebutan kit ekstraksi, dengan waktu pengerjaan yang relatif lebih cepat dan menghindari toksisitas akibat penggunaan phenol [3].

Tahapan utama ekstraksi DNA dalam penelitian ini menggunakan kit yang terdiri atas lisis sel, pengikatan DNA (binding), pencucian DNA (wash), dan elusi dengan menggunakan reagen-reagen/buffer yang telah disediakan oleh produsen *Extraction Kit*. Proses pengikatan (*binding*) DNA terjadi oleh adanya membran silika yang terdapat dalam *minispin column tube*. Prinsip dasar dari membran silika di dalam spin column sangatlah sederhana. DNA berikatan dengan membran silika pada *spin column* dengan adanya bantuan dari garam *chaotrophic* dengan konsentrasi tinggi, kontaminan akan dibuang dan DNA dielusi dari membran silika dengan air atau garam penyangga berkonsentrasi rendah. Elusi atau pemisahan DNA dari komponen sel lainnya dalam hal ini pelepasan DNA dari kolom silika, merupakan tahap akhir terpenting dalam ekstraksi menggunakan kit.

Sumber jaringan yang diekstraksi dalam penelitian ini berasal dari jaringan otot bagian dorsal (*epaxial muscle*) ikan kerapu. Jaringan adalah kumpulan sel yang memiliki bentuk dan struktur yang sama untuk fungsi tertentu. Jaringan hewan dan manusia umumnya sama, terdiri atas jaringan epitel, jaringan otot, jaringan saraf, jaringan penguat (jaringan ikat, jaringan tulang keras, jaringan tulang rawan, dan darah), dan jaringan lemak. Jaringan yang dapat diambil sebagai material *Deoxyribose Nucleic Acid* (DNA) antara lain otot, hati, jantung, sel epitel, dan bagian tubuh lainnya. DNA (*Deoxyribo Nucleic Acid*) dan RNA (*Ribo Nucleic Acid*) merupakan asam nukleat yang disusun oleh nukleotida. Nukleotida adalah senyawa yang terdiri dari 3 komponen yaitu basa nitrogen, gula pentosa, dan gugus fosfat (PO₄²⁻). DNA pada organisme tingkat tinggi seperti manusia, hewan, dan tumbuhan terdapat di dalam inti sel dan beberapa organel sel seperti mitokondria dan kloroplas, sehingga penamaan DNA juga didasarkan pada lokasi asal misalnya DNA genom inti (*nuclear DNA genome*), DNA genom mitokondria (*mitochondrial DNA genome*), dan DNA genom kloroplast (*chloroplast DNA genome*) [4].

Metode

Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan untuk ekstraksi jaringan otot ikan kerapu diantaranya, gunting, pinset, *scalpel*, *waterbath*, *sentrifuge*, *microwave*, tabung *ependorf* 1.5 ml, tip, mikro pipet ukuran 0.1 µl - 1000 µl sedangkan *mini spin column* dan *collection tube* 2 ml sudah tersedia dalam *Extraction Kit*. Bahan yang harus disiapkan yaitu Proteinase K, EtOH absolut sedangkan reagen-reagen ekstraksi lainnya (buffer ATL, buffer AL, buffer AW1, buffer AW2, buffer AE) sudah tersedia dalam Qiagen *Extraction Kit*.

Sampel jaringan

Sampel yang digunakan merupakan jaringan otot empat individu ikan kerapu (*Epinephelus* sp.) yang berasal dari Lombok (1 ekor) dan Pangandaran (3 ekor).

Preparasi jaringan (otot)

Jaringan otot yang digunakan, diambil dari tubuh ikan kerapu bagian *epaxial muscle* yaitu jaringan otot dari bagian dorsal tubuh ikan. Bagian ini dipilih karena memiliki massa otot yang cukup tebal sehingga memudahkan pengambilan jaringan otot. Untuk keperluan identifikasi morfologi (*Barcode*), pengambilan jaringan dilakukan secara hati-hati dengan memperhatikan aspek estetika agar menghindari sayatan yang terlalu mencolok. Pengambilan jaringan dari *epaxial muscle* dilakukan dengan cara menyayat kulit ikan sekitar 1-2 cm menggunakan *scalpel*. Kemudian jaringan otot diambil dengan bantuan pinset yang berujung runcing agar dapat menjangkau otot bagian dalam (menghindari terambilnya simbiose dari kulit/sisik ikan). Selanjutnya sekitar 20 gram otot diambil, dimasukkan ke dalam tube 2 ml yang berisi alkohol 95%. Sampel dicuci menggunakan alkohol 95% sebanyak 2 kali ulangan selanjutnya jaringan otot dipreservasi dengan alkohol 95%.

Ekstraksi DNA

Prinsip utama dalam isolasi DNA yakni penghancuran (lisis) membran sel, ekstraksi atau pemisahan DNA, dan presipitasi DNA [5]. Tahapan utama ekstraksi DNA menggunakan kit terdiri atas lisis sel, pengikatan DNA (binding), pencucian DNA (wash), dan elusi dengan menggunakan reagen-reagen/buffer yang telah disediakan oleh produsen *Extraction Kit*. Proses pengikatan (*binding*) DNA terjadi oleh adanya membran silika yang terdapat dalam *minispin column tube*. Penggerusan atau grinder dilakukan untuk membantu mempercepat proses lisis membran sel. Penambahan Proteinase K berfungsi untuk melisis protein.

Penambahan buffer ATL dan AL masih termasuk dalam proses lisis. Tahapan pengikatan (binding) DNA melibatkan minispin column yang di dalamnya terdapat membran berbasis silika dengan menambahkan ethanol absolut. Tahap pencucian DNA (wash) melibatkan buffer AW1 dan AW2. Tahap terakhir adalah elusi atau pemisahan DNA dari komponen sel lainnya dalam hal ini pelepasan DNA dari kolom silika sehingga diperoleh DNA murni.

Sebelum melakukan ekstraksi DNA, terlebih dahulu disiapkan semua alat dan bahan yang akan digunakan termasuk proteinase-K dan EtOH absolut (gambar 1). Tabung ependorf 1,5 ml dan tip pipet terlebih dahulu disterilisasi menggunakan mesin autoclave. Selain itu sterilisasi meja kerja dan mikro pipet yang akan digunakan juga dilakukan dengan menggunakan ethanol 70% sehingga bebas dari debu dan kontaminan. Berbagai reagent dari Kit yang akan digunakan juga dipersiapkan di antaranya buffer ATL, buffer AL, buffer AW1, buffer AW2, buffer AE, serta mini spin column dan collection tube (gambar 2). Tahapan kerja berikutnya mengikuti protokol Extraction Kit yang digunakan yaitu sebagai berikut:

Step 1: Sebanyak + 20 mg jaringan otot ikan kerapu yang telah dipreservasi dalam alkohol 95% diambil dari tube sampel.

Step 2: Alkohol dari jaringan diserap dengan menggunakan kertas tissue hingga kering. Sampel yang telah diserap alkoholnya dimasukkan ke dalam tabung ependorf 1,5 ml. Jaringan kemudian digrinder atau dicacah menggunakan gunting.

Step 3: Buffer ATL ditambahkan sebanyak 200 µl dan Proteinase K 20 µl. Vortex 15 detik, kemudian diinkubasi pada suhu 56 oC (1-2 jam). Vortex setiap 20 menit.

Step 4: Buffer AL 200 µl ditambahkan, kemudian divortex selama 15 detik.

Step 5: EtOH (96-100%) ditambahkan sebanyak 200 µl, kemudian divortex 15 detik.

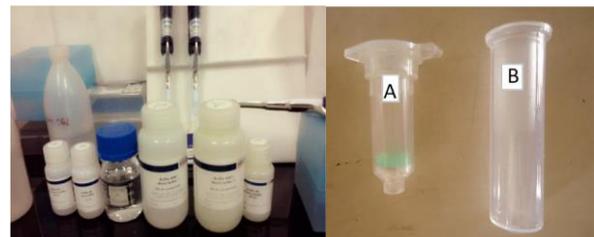
Step 6: Seluruh campuran di pipet dan dimasukkan ke dalam Dneasy mini spin column tube 2 ml, kemudian disentrifugasi 800 rpm selama 1 menit.

Step 7: Cairan dan collection tube dibuang kemudian pindahkan DNeasy mini spin column ke collection tube yang baru. Tambahkan 500 µl Buffer AW 1, kemudian disentrifugasi 800 rpm selama 1 menit.

Step 8: Cairan dibuang kemudian tempatkan DNeasy mini spin column kembali ke collection tube 2 ml.



Gambar 1. Persiapan alat dan bahan ekstraksi DNA (gunting, pinset, scalpel, waterbath, sentrifuge, microwave, tabung ependorf 1.5 ml, tip, mikro pipet ukuran 0.1 il - 1000 il, Proteinase K, EtOH absolut).



Gambar 2. Reagen-reagen dan alat yang tersedia dalam *Extraction Kit* (kiri).

Tambahkan 500 µl Buffer AW 2, kemudian disentrifugasi 14.000 rpm selama 3 menit.

Step 9: Cairan dan collection tube dibuang, Dneasy mini spin column dipindahkan ke tube 1,5 ml yang baru.

Step 10: Sebanyak 100 µl Buffer AE (Elution buffer) ditambahkan untuk membasuh DNA pada matriks mini spin column. Inkubasi selama 1 menit, kemudian disentrifugasi 800 rpm selama 1 menit. Diperoleh DNA total.

Analisis DNA secara kualitatif

Uji kualitatif DNA hasil ekstraksi dilakukan dengan melakukan elektroforesis dalam gel agarose 1% yang dijalankan pada tegangan 100 volt selama 30 menit.

Analisis DNA secara kuantitatif

Kuantifikasi DNA hasil ekstraksi dilakukan dengan mengukur rasio, konsentrasi DNA (µg/ml) dan protein (mg/ml) dari setiap sampel dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 260 dan 280 nm

Hasil dan Pembahasan

Menurut Hajibabaei *et al.* [3] terdapat tiga metode ekstraksi dan purifikasi untuk mendapatkan DNA genom dengan relatif cepat yaitu ekstraksi menggunakan Chelex 100, ekstraksi menggunakan silika atau membran silika dan ekstraksi menggunakan *Magnetic-Bead Based*. Metode Chelex (*Chelating Ion Exchange*) merupakan metode ekstraksi berbasis bahan pengkelat untuk memurnikan senyawa lain melalui mekanisme pertukaran ion. Metode Chelex relatif sederhana dan cepat. Tahapan dalam metode Chelex menggunakan sedikit tube transfer dan tidak melibatkan pelarut organik toksik [6]. Metode *Magnetic-Bead Based* merupakan metode ekstraksi yang melibatkan penambahan partikel magnetik (*magnetic beads*) dan magnet separator sebagai alat pemisah DNA target yang telah dihomogenasi dengan partikel magnetik [7,8]

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstraksi dengan menggunakan membran silika atau yang lebih dikenal dengan metode kit ekstraksi. Berbagai protokol menyatakan bahwa ekstraksi berbasis silika dan membran silika dapat menghasilkan DNA yang relatif murni. Pendekatan penggunaan silika dan membran silika ini juga lebih efektif dalam mengekstrak DNA dalam studi spesimen yang telah terdegradasi [3]. Menurut Raffiudin *et al.* [9] ekstraksi dengan metode kit merupakan teknik yang tepat digunakan oleh para pengambil kebijakan di badan karantina untuk mendeteksi spesies introduksi dari luar Indonesia, sehingga dapat memutuskan secara cepat perizinan diperbolehkan atau tidaknya spesies tersebut masuk ke Indonesia. Kit ekstraksi tersedia untuk bermacam-macam spesimen sesuai peruntukannya, misalnya untuk ekstraksi jaringan darah, jaringan tumbuhan, dan bakteri.

Saat ini kit ekstraksi komersial banyak digunakan oleh para peneliti sebagai alternatif metode ekstraksi organik dari berbagai material sumber genetik dengan berbagai perlakuan. Selain mudah dan cepat dalam pengerjaannya, kualitas DNA yang diperoleh relatif murni.

Penggunaan manik-manik gelas atau partikel silika gel menjadi metode yang populer untuk mengisolasi DNA. Evolusi dari prinsip ini diperkenalkan melalui spin column dengan membran silika. Prinsip dasar dari gel padat silika di dalam spin column sangatlah sederhana. DNA berikatan dengan membran silika pada spin column dengan adanya bantuan dari garam chaotrophic dengan konsentrasi tinggi, kontaminan akan dibuang dan DNA di

elusi dari membran silika dengan air atau garam penyangga dengan konsentrasi rendah. Metode penggunaan membran silika merupakan modifikasi dari prinsip yang pertama kali dilakukan oleh Vogelstein dan Gillespie [10]. Vogelstein dan Gillespie menyatakan bahwa percobaan dapat dilakukan dengan waktu yang singkat, sederhana, non toksik dan menghasilkan panen DNA dengan kemurnian yang tinggi.

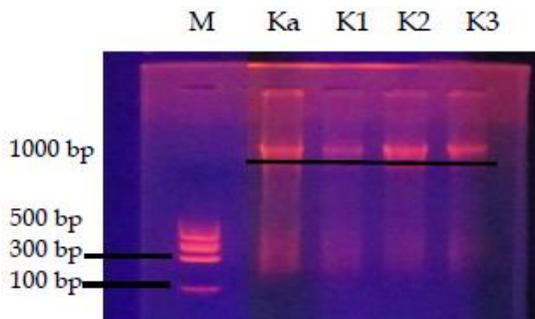
Prinsip pemurnian matriks silika didasarkan pada afinitas yang tinggi dari ruas rangka DNA yang bermuatan negatif terhadap partikel silika yang bermuatan positif [11]. Silika berikatan dengan DNA melalui interaksi ikatan hidrogen dengan matriks hidrofilik silika, di bawah kondisi garam *chaotrophic* terkonsentrasi (biasanya natrium iodida, natrium perklorat, guanidinium tiosianat). Agen *chaotrophic* adalah molekul terlarut yang mengganggu dan mengubah sifat makromolekul protein dan asam nukleat misalnya DNA dan RNA dengan meningkatkan entropi sistem yang dapat mengganggu interaksi intramolekul seperti ikatan hidrogen, gaya van der Waals, dan efek hidrofobik [12]. Pada umumnya, guanidinium tiosianat dan guanidinium hidroklorida digunakan untuk mengikat asam nukleat ke membran silika. Di bawah konsentrasi garam yang tinggi, asam nukleat selektif berikatan dengan membran silika sementara kontaminan lainnya, terutama protein, melewati membran.

Berdasarkan Hajibabaei *et al.* [3] pada pengujian perbandingan teknik isolasi, ekstraksi menggunakan kit lebih aman dari kesalahan pengerjaan yang menimbulkan kontaminasi dibandingkan dengan menggunakan teknik ChargeSwitch dan DryRelease. Selain itu metode ekstraksi berbasis silika juga dianjurkan untuk spesimen yang mengalami proses penyimpanan (pengawetan).

Penggunaan kit komersial ini bukan berarti tidak memiliki kekurangan. Beberapa penelitian untuk membandingkan metode ekstraksi yang tepat pada beberapa spesimen dengan berbagai perlakuan menyatakan tidak semua kit komersial mampu memanen DNA dalam konsentrasi yang tinggi. Mulyani *et al.* [13] menyatakan bahwa metode yang paling sensitif mengisolasi DNA genom ikan mas yang terinfeksi (Koi Herves Virus) KHV adalah metode modifikasi CTAB (*Cetyltrimethylammonium Bromide*). Metode modifikasi CTAB ini menghasilkan nilai kemurnian DNA yang baik dengan konsentrasi DNA tertinggi, diikuti metode kit ekstraksi DNA dan metode CTAB dengan phenol dan thermal lisis.

Tabel 1. Nilai absorbansi dan konsentrasi DNA total.

No	Kode Sampel	Konsentrasi DNA	Unit	260/280
1.	Ka	15.3	ng/ μ l	2.04
2.	K1	9.75	ng/ μ l	2.05
3.	K2	14.8	ng/ μ l	1.97
4.	K3	6.25	ng/ μ l	2.08
Rata-rata		11.52		2.03

**Gambar 3** Visualisasi DNA hasil ekstraksi dibawah sinar UV, M = Marker (1500 bp) dan K1-K4 = nomor sampel.

Analisis DNA Secara Kualitatif dan Kuantitatif

Indikasi terdapatnya DNA dari hasil ekstraksi dapat terlihat dari pita DNA yang membentuk smear (gambar 3). Terdapat 4 pita sampel yang tervisualisasi pada gel agarose. Perkiraan ukuran pita DNA dapat diketahui dari perbandingan marker. Marker yang digunakan memiliki ukuran total 1500 pb (pasang basa). Munculnya pita pada gel menandakan terdapatnya DNA dari hasil ekstraksi terlepas dari ada tidaknya materi ikutan selama proses isolasi. Uji eksistensi DNA seperti ini mudah dan sederhana, namun tidak dapat mengkuantifikasi secara detail konsentrasi DNA yang sebenarnya dari tiap sampel.

Kuantifikasi untuk mengukur konsentrasi DNA dan protein tiap sampel dapat dilakukan dengan menggunakan teknik nanodrop. Tingkat kemurnian DNA berkorelasi dengan kualitas DNA. Kualitas DNA dapat ditentukan dengan cara menghitung rasio antara nilai OD₂₆₀ dan nilai OD₂₈₀ pada sampel DNA yang diukur melalui spektrofotometer. DNA dinyatakan memiliki tingkat kemurnian 85% jika memiliki nilai rasio OD₂₆₀/OD₂₈₀ (optical density) berkisar antara 1.8–2.0 [14]. Adanya kontaminasi fenol atau protein pada hasil ekstraksi menurut Fan dan Gulley [2] memiliki rasio OD₂₆₀/OD₂₈₀ < 1,7 Khosravinia et al. [15] juga menjelaskan bahwa DNA dikatakan terkontaminasi RNA jika memiliki rasio OD₂₆₀/OD₂₈₀ > 2,0. Nilai absorbansi selanjutnya dapat dilihat pada tabel 1.

Kesimpulan

Ekstraksi DNA yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan metode ekstraksi adopsi nonorganik atau yang lebih dikenal dengan metode kit ekstraksi. Kolom berbasis membran silika dibawah larutan garam terkonsentrasi menjadi prinsip pemurnian Kit ekstraksi. Metode ekstraksi menggunakan kit, waktu pengerjaannya lebih singkat, sederhana, non toksik dan menghasilkan panen DNA dengan kemurnian yang tinggi, namun dengan biaya yang sedikit lebih tinggi. Sebanyak 4 sampel jaringan dari otot ikan kerapu (*Epinephelus* sp.) berhasil diekstraksi menggunakan *Extraction Kit* yang diindikasikan dengan munculnya pita pada analisis DNA secara kualitatif dalam gel agarose 1 %. Kemurnian DNA berdasarkan rasio OD₂₆₀/OD₂₈₀ berkisar antara 1.97-2.08 yang menunjukkan bahwa DNA yang diekstraksi memiliki tingkat kemurnian yang tinggi.

Konflik Kepentingan

Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan dalam penelitian ini.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kepala Laboratorium Molekuler, Pusat Penelitian Oseanografi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Ancol atas pemberian izin untuk mengerjakan penelitian di Laboratorium Molekuler, Pusat Penelitian Oseanografi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Ancol. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah memberikan masukan pada penulisan naskah artikel ini saat penulis menjadi mahasiswa di Sekolah Pascasarjana, Program Studi Biosains Hewan, Institut Pertanian Bogor.

Referensi

- [1] Sambrook J, Russell DW. *Molecular Cloning: A Laboratory, Third Edition*. New York (US): Cold Spring Harbour Laboratory Press. 2001.
- [2] Fan H, Gulley ML. *Molecular Pathology Protocols: Methods in Molecular Medicine*. A. A. Killeen, editor. Totowa, NJ: Humana Press Inc. 2000.
- [3] Hajibabaei M, deWaard JR, Ivanova NV, Ratnasingham S, Dooh RT, Kirk SL, Mackie PM, Hebert PDN. Critical factors for assembling a high volume of DNA barcodes. *Phil Trans R Soc B*. 360: 1959-1967. 2005.

- [4] Albert B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. Molecular Biology of The Cell, Fifth Edition. New York (US): Garland Science, Taylor & Francis Group. 2008.
- [5] Walker M and Rapley R (eds). Molecular Biomethods Handbook, 2nd edn. NJ, USA: Humana Press. 2008.
- [6] Sweet D, Lorente M, Valenzuela A, Lorente JA, Alvarez JC. Increasing DNA extraction yield from saliva stains with a modified Chelex method. *For Sci Int.* 83: 167-177. 1996.
- [7] Stefano RC, Vago L, Bonetto S, Nebuloni M, Costanzi G. Use magnetic beads for tissue DNA extraction and IS6110 Mycobacterium tuberculosis PCR. *J Clin Pathol.* 52: 158-163. 1999.
- [8] Albertoni GA, Arnoni CP, Araujo PRB, Andrade SS, Carvalho FO, Girão MJBC, Schor N, Barreto JA. Magnetic bead technology for viral RNA extraction from serum in blood bank screening. *Braz J Infect Dis.* 15 (16): 547-552. 2011.
- [9] Raffiudin R, Bintar A, Widjaja MC, Farajallah A, Purwantara B. Rapid detection of the Africanized honey bee: a tool for Indonesian animal quarantine. *Biotropia.* 16 (1): 38-44. 2009.
- [10] Vogelstein B, Gillespie D. Preparative and analytical purification of DNA from agarose. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 76: 615-619. 1979.
- [11] Esser KH, Marx WH, and Lisowsky T. MaxBbond: first regeneration system for DNA binding silica matrices. *Nature.* 3(1): 1 – 2. 2006.
- [12] Berensmeier S. Magnetic particles for the separation and purification of nucleic acids. *Microbiol.Biotechnol.* 73: 495-504. 2006.
- [13] Mulyani Y, Purwanto A, Nurruhwati I. Perbandingan beberapa metode isolasi DNA untuk deteksi dini Koi Herves Virus (KHV) pada ikan mas (*Cyprinus carpio* L). *Akuatika:* 1-16. 2011.
- [14] Glasel JA. Validity of nucleic acid purities monitored by 260 nm/280 nm absorbance ratio. *BioTechniques* 18(1): 62-62. 1994.
- [15] Khosravinia H, Murthy HNN, Parasad DT, Pirany N. Optimizing factors influencing dna extraction from fresh whole avian blood. *African J Biotechnol.* 6 (4): 481-486. 2007.