Tersedia *online* di: *journal.gunabangsa.ac.id*

Journal of Health (JoH)

ISSN (*online*): 2407-6376 | ISSN (print): 2355-8857

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 Prameswari[1], Jamilatur Rohmah[2], Andika Aliviameita[3], Miftahul Mushlih[4]*

Universitas Muhammadiyah Sidoarjo Indonesia, D-IV Teknologi Laboratorium Medis

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 the biology of 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 whether there are differences in the results of the centrifugation speed of blood samples for molecular-based examination of Type 2 Diabetes Mellitus (T2D). Optimal centrifugation speed can produce high-quality DNA required for molecular analysis, thereby improving the accuracy of diagnosis and effectiveness of T2D treatment. DNA contaminated by cellular debris can result in small amounts of DNA obtained for further analysis. The research was carried out qualitatively using descriptive experimental research using purposive sampling techniques. The total samples used were 25 samples, taken from 5 patients and then divided into 5 treatment groups (no centrifugation, centrifugation speed 500 rpm, 1500 rpm, 3000 rpm and 4500 rpm for 5 minutes). Test testing is carried out qualitatively (electrophoresis). The results showed that there was no significant difference in DNA visualization in molecular examination of T2D disease between blood samples that were not centrifuged and those that were centrifuged at speeds of 500 rpm, 1500 rpm, 3000 rpm and 4500 rpm for 5 minutes. However, centrifugation speeds between 1500 rpm and 4500 rpm showed thicker and clearer DNA bands.

Keywords: *Type 2 Diabetes Mellitus (T2D); Centrifugation; Qualitative Test.*

INFORMASI ARTIKEL

Diterima	:	18 Agustus 2024
Direvisi	:	21 April 2025
Disetujui	:	22 April 2025
Dipublikasi	:	31 Juli 2025

KORESPONDENSI

Miftahul Mushlih

mif.mushlih@umsida.ac.id

Copyright © 2025 Author(s)

Di bawah lisensi *Creative Commons Attribution 4.0 International License*.

INTISARI

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 adanya perbedaan hasil dari kecepatan sentrifugasi sampel darah untuk pemeriksaan Diabetes Melitus Tipe 2 (T2D) berbasis molekuler. Kecepatan sentrifugasi yang optimal dapat menghasilkan DNA berkualitas tinggi yang diperlukan untuk analisis molekuler, sehingga dapat meningkatkan akurasi diagnosis dan efektivitas perawatan T2D. DNA yang terkontaminasi oleh sisa seluler dapat menyebabkan jumlah DNA yang didapat berjumlah sedikit untuk analisis lebih lanjut. Penelitan dilakukan secara kualitatif dengan jenis penelitian deskriptif eksperimental dengan teknik

purposive sampling. Total sampel yang digunakan sebanyak 25 sampel, yang diambil dari 5 pasien dan kemudian 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). Hasil menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan dalam visualisasi DNA penyakit T2D pada pemeriksaan molekuler di antara sampel darah yang tidak disentrifugasi dan yang disentrifugasi pada kecepatan 500 rpm, 1500 rpm, 3000 rpm, dan 4500 rpm selama 5 menit. Namun, pada kecepatan sentrifugasi antara 1500 rpm hingga 4500 rpm menunjukkan hasil pita DNA yang lebih tebal dan lebih jelas.

Kata kunci: Diabetes Melitus Tipe 2(T2D), Sentrifugasi, Uji Kualitatif.

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 (Galacia-Garcia dkk., 2020). Penyakit ini juga disebut dengan penyakit multifaktorial karena dapat disebabkan karena faktor genetik, lingkungan, dan kombinasi antara genetik dan lingkungan (Salasa dkk., 2021).

Menurut Dinas Kesehatan Jawa Timur (2021), 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.

Gen yang terlibat dalam penyakit T2D cukup banyak seperti gen TCF7L2, ABCG1, KCNQI, 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 (Wilmer dkk., 2018). 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 (Zarch dkk., 2020).

Darah merupakan salah satu sampel yang paling sering digunakan dalam melakukan isolasi DNA, karena keberadaan sel darah putih berinti yang menjadi sumber penting DNA genom serta dapat menganalisis kelainan genetik (Guha dkk., 2018). 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 (Ginkel dkk., 2017).

Berdasarkan hasil penelitian Wardana & Mushlih, (2021) tentang perbandingan kualitas DNA yang diisolasi dengan metode column dengan dan tanpa sentrifugasi menunjukkan terdapat perbedaan hasil visualisasi pada gel agarose. Sampel dengan perlakuan sentrifugasi (*buffy coat)* didapatkan visualisasi pita DNA yang jelas dan tebal daripada tanpa perlakuan sentrifugasi (*whole blood*).

Hasil penelitian yang dilakukan Ginkel, dkk, (2016) 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. Selanjutnya pada penelitian Sherwood, dkk, (2016) 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 efesien.

Penelitian optimasi kecepatan sentrifugasi ini, dapat digunakan dalam membantu penegakkan penyakit T2D, karena hasil isolasi DNA dari sampel darah merupakan langkah penting dalam pemeriksaan molekuler untuk mendeteksi biomarker diagnostik. Kualitas DNA yang diisolasi dapat dipengaruhi oleh faktor teknik dan parameter pra-analitik, salah satunya adalah kecepatan sentrifugasi. Jika kecepatan sentrifugasi tidak dioptimalkan, maka hasil isolasi DNA dapat terkontaminasi oleh sisa seluler atau menghasilkan jumlah DNA yang tidak mencukupi untuk analisis lebih lanjut.

Pada pasien T2D, deteksi dini melalui pemeriksaan molekuler berpotensi membantu identifikasi biomarker yang dapat memprediksi atau memonitor perkembangan penyakit sebelum gejala klinis muncul. Dengan demikian, kecepatan sentrifugasi yang optimal dapat menghasilkan DNA berkualitas tinggi yang diperlukan untuk analisis molekuler ini, sehingga dapat meningkatkan akurasi diagnosis dan efektivitas perawatan T2D. Optimasi ini juga dapat mengurangi kesalahan dalam hasil pemeriksaan, mempermudah analisis genetik, dan mempercepat deteksi faktor-faktor risiko genetik yang terlibat dalam patogenesis T2D.

METODE

Penelitian ini telah melakukan uji kelaikan etik (*ethical cleareance*) di Komisi Kelaikan Etik Penelitian dan Kesehatan (KKEPK) Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya dengan nomor 0597/HRECC.FODM/VI/2024. Penelitan 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 total sampel berjumlah 25 sampel, yang diambil dari 5 pasien dan kemudian dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan. 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) tentang cara penyelenggaraan laboratorium klinik yang baik, salah satunya Standar Prosedur Operasional (SPO) pemisahan spesimen darah yaitu sentrifugasi selama 5-15 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Sehingga peneliti melakukan variasi percobaan 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 µL dan dilakukan isolasi DNA column dengan kit merk TianGen. Proses isolasi DNA dimulai dari tahap lisis sel, ekstraksi dan elusi atau pemurnian. Setelah sampel diambil, selanjutnya menambahkan CL Buffer sebanyak 200 µL 3, invers 11 kali kemudian disentrifugasi kecepatan 10.000 rpm 5 menit, kemudian seluruh supernatan dibuang. Setelah

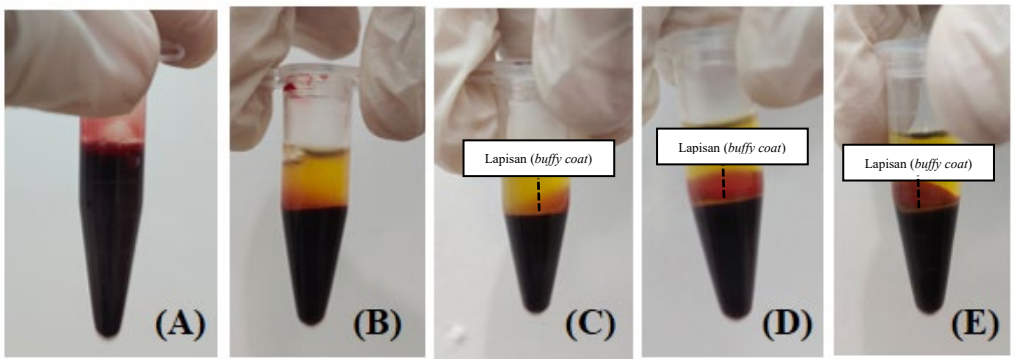
supernatan dibuang, menambahkann GS Buffer 200 µL dihomogenkan dengan cara divortex 5 detik, setelah itu menambahkan GB Buffer 200 µL dan 20 µL Proteinase K, lalu dihomogenkan menggunakan vortex dan diinkubasi di waterbath pada suhu 56^{o}C selama 10 menit. Selanjutnya menambahkan BD Buffer sebanyak 350 µL dan diinvers sebanyak 10x.

Setelah campuran sampel homogen, kemudian dipindah ke CG2 Column yang ditempatkan pada *collection tube* dan disentrifugasi kecepatan 12.000 rpm 30 detik selanjutnya *flowthrough* dibuang dan menempatkan *collection tube* pada CG2 Column lagi. Setelah itu, menambahkan 500 µL GDB Buffer, dan disentrifugasi pada kecepatan 12.000 rpm 30 detik dan buang *flowthrough*, pasang *collection tube* pada CG2 Column. Tambahkan PWB Buffer sebanyak 600 µL, sentrifugasi 12.000 rpm selama 30 detik, buang *flowthrough* dan *collection tube* diletakkan lagi pada CG2 Column prosedur ini diulang sebanyak 2 kali dan disentrifugasi 12.000 rpm selama 30 detik, buang *flowthrough* CG2 Column ditempatkan pada microtube 1,5 mL. Kemudian pada tahap pemurnian ini, tambahkan TB Buffer sebanyak 100 µL, dan diinkubasi 2 menit pada suhu ruang. untuk memastikan reagen bekerja degan baik, dan setelah itu sentrifugasi pada kecepatan 12.000 rpm 2 menit dan telah didapatkan DNA Murni hasil isolasi DNA (TianGen, 2020).

Setelah sampel darah diisolasi DNA nya, kemudian dilanjutkan uji secara kualitatif untuk mengetahui atau memastikan ada atau tidak adanya DNA yang terbentuk dengan menggunakan elektroforesis. Konsentrasi gel agarose yang digunakan yaitu 1% dengan cara melarutkan 0,4gram gel agarose kemudian diencerkan menggunakan larutan TBE 1x sebanyak 40 mL. Larutan kemudian dipanaskan di dalam *microwave* 37^{o}C hingga larut atau selama 2 menit. Setelah itu, larutan ditunggu hingga hangat kuku dan tambahkan gel *red* sebanyak 1,5 µL dan tuang ke dalam cetakan gel dan tunggu hingga gel tersebut mengeras sekitar ± 20 menit. Setelah gel mengeras, gel dimasukkan ke dalam *electrophoresis chamber* yang telah digenangi dengan TBE 1x. Kemudian mencampurkan 2 µL ddH_2O, 1 µL *loading dye*, 3 µL DNA sampel pada parafilm. Elektroforesis menggunakan tegangan100 V selama 20 menit. Kemudian, hasil diamati dibawah sinar UV dan dimasukkan dalam *gel documentation*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

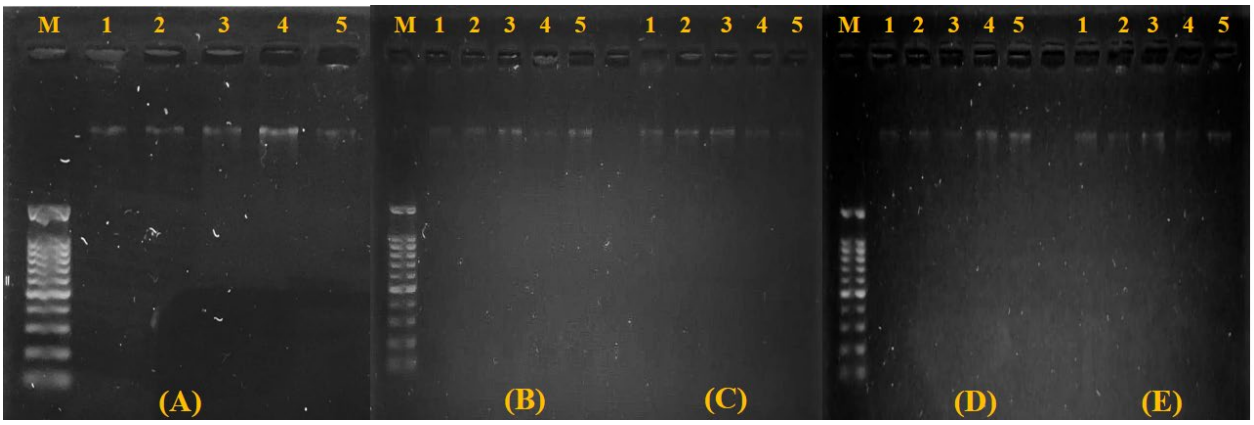
Darah yang disentrifugasi akan terpisah menjadi 3 bagian, bagian bawah yang berupa komponen padat tersusun atas sel darah merah atau eritrosit, dan bagian tengah berupa *buffy coat* yang tersusun atas sel darah putih atau leukosit dan trombosit, kemudian pada bagian atas merupakan komponen cair yang mengandung plasma (Rosita dkk., 2019). 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 (Siswanto dkk., 2017).



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

DOI: doi.org/10.30590/joh.v12n2.5

Perlakuan pada sampel A sebagai kontrol negatif yaitu *whole blood*, 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 (Pascawinata dkk., 2021). Hasil dari gaya sentrifugal memiliki perbandingan lurus dengan kecepatan dan lama pemutaran pada mesin sentrifus. Semakin besar kecepatan dan lama pemutaran mesin sentrifus, akan menghasilkan pemisahan pada senyawa-senyawa dalam campuran atau koloid yang semakin besar menurut massa jenisnya (Bastami & Khojasteh, 2016).



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 salah satunya melalui uji kualitatifnya. 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. Hasil tersebut menunjukkan pita yang terlihat lebih jelas pada sampel dengan kecepatan sentrifugasi kisaran 1500 rpm sampai 4500 rpm, yaitu sampel dengan lapisan *buffy coat* lebih tebal yang mengandung inti sel, serta terdapat DNA genom di dalamnya. Sehingga kecepatan ini dapat digunakan sebagai referensi dalam pemisahan *buffy coat* dari sampel darah yang dapat menghasilkan DNA yang lebih murni dan berkonsentrasi lebih tinggi. Pita yang tipis pada gel agarosa dapat dipengaruhi oleh rendahnya konsentrasi DNA, yang disebabkan oleh komponen sel darah merah yang tidak mengandung DNA genom masih tercampur (Siswanto, dkk, 2017). 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) (Sundari & Priadi, 2020).

Adapun hal-hal yang dapat mempengaruhi hasil elektroforesis yaitu jenis sampel, meskipun menggunakan jenis sampel yang sama dapat juga menunjukkan hasil yang berbeda, suhu elektroforesis yang tinggi juga dapat mengubah konformasi DNA menjadi tidak stabil, arus listrik yang digunakan dalam elektroforesis harus stabil, karena arus ini yang dapat digunakan untuk menarik sampel. Semakin tinggi dari tegangan listrik yang dialirkan maka semakin cepat sampel bermigrasi namun kekompakan dari sampel berkurang dan semakin rendah arus listrik yang digunakan maka sampel yang bermigrasi semakin

DOI: doi.org/10.30590/joh.v12n2.5

rendah, kekompakkan sampel lebih baik, namun arus yang lemah juga dapat mengakibatkan sampel bermigrasi pada daerah yang tidak diinginkan (Mushlih, 2019).

Penyebab dari rendahnya konsentrasi DNA dapat juga dipengaruhi oleh volume darah, untuk memperoleh sampel *buffy coat* juga memerlukan volume darah yang lebih banyak agar terbentuk lapisan buffy coat yang tebal (Siswanto dkk, 2017), sedangkan dalam penelitian ini volume darah yang digunakan sebanyak 1 mL. Selain itu juga dapat dipengaruhi oleh merk kit reagen isolasi DNA. Setiap kit isolasi DNA memiliki kemampuan mengekstraksi DNA yang berbeda-beda. Aspek teknis keterampilan peneliti dalam melakukan isolasi DNA juga dapat mempengaruhi hasil karena tahapan isolasi DNA metode column memiliki prosedur yang panjang sehingga peneliti harus meminimalisir kontaminan 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 (Ludyasari, 2014), 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 (Triani, 2020). Dari hasil variasi waktu proses sentrifugasi sampel darah, kualitas kit reagen isolasi yang berbeda, peningkatan volume darahl diharapkan dapat memberikan hasil yang lebih representatif dan dapat membantu dalam pengembangan metode isolasi DNA yang lebih baik dalam pemeriksaan molekuler pada penyakit T2D.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan dalam visualisasi DNA pada pemeriksaan molekuler penyakit T2D di antara sampel darah yang tidak disentrifugasi dan yang disentrifugasi pada kecepatan 500 rpm, 1500 rpm, 3000 rpm, dan 4500 rpm selama 5 menit. Namun, pada kecepatan sentrifugasi antara 1500 rpm hingga 4500 rpm menunjukkan hasil pita DNA yang lebih tebal dan lebih jelas. Saran untuk penelitian selanjutnya yaitu jumlah volume darah yang lebih besar dapat memudahkan dalam pemisahan *buffy coat*, serta evaluasi variasi waktu sentrifugasi dan kualitas kit reagen isolasi yang berbeda untuk mendapatkan hasil DNA yang lebih optimal. Selain itu, peningkatan jumlah sampel juga akan memberikan hasil yang lebih representatif dan dapat membantu dalam pengembangan metode isolasi DNA yang lebih baik dalam pemeriksaan molekuler pada penyakit T2D.

DAFTAR PUSTAKA

Bastami, F., & Khojasteh, A. (2016). *Use of Leukocyte and Platelet-Rich Fibrin for Bone Regeneration: A Systematic Review. Journal of" Regeneration, Reconstruction & Restoration"(Triple R), 1(2), 47-68. https://doi.org/10.22037/rrr.v1i2.9841*

Dinas Kesehatan Jawa Timur. (2021). Profil Kesehatan 2021. diakses dari: https://dinkes.jatimprov.go.id/userfile/dokumen/PROFIL%20KESEHATAN%202021%20JATIM.pdf

Galicia-Garcia, U., Benito-Vicente, A., Jebari, S., Larrea-Sebal, A., Siddiqi, H., Uribe, K. B., Ostolaza, H., & Martín, C. (2020). *Pathophysiology of Type 2 Diabetes Mellitus. International journal of molecular sciences, 21(17), 6275. https://doi.org/10.3390/ijms21176275*

Ginkel, J. H., Broek, D. A., Kuik, J., Linders, D., de Weger, R., Willems, S. M., & Huibers, M. M. H. (2017). *Preanalytical Blood Sample Workup for Cell-Free DNA Analysis Using Droplet Digital PCR for Future Molecular Cancer Diagnostics. Cancer medicine, 6(10), 2297–2307. https://doi.org/10.1002/cam4.1184*

Guha, P., Das, A., Dutta, S., & Chaudhuri, T. K. (2018). *A Rapid and Efficient DNA Extraction Protocol from Fresh and Frozen Human Blood Samples. Journal of Clinical Laboratory Analysis, 32(1), e22181. https://doi.org/10.1002/jcla.22181*

Ludyasari, A. (2014). Pengaruh suhu annealing pada program PCR terhadap keberhasilan amplifikasi DNA udang jari (*Metapenaeus*

elegan) laguna segara anakan Cilacap Jawa Tengah (Doctoral dissertation, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim). Diakses dari: http://etheses.uin-malang.ac.id/id/eprint/2540

Mushlih, M. (2019). Aplikasi Dasar Di Dunia Kesehatan. *Umsida Press,* 1-66. https://doi.org/10.21070/2019/978-623-6081-07-5

Pascawinata, A., Andriansyah, A., & Bismanevi, R. (2021). 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. https://doi.org/10.33854/jbd.v8i3.604

Permenkes RI. (2013). Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 43 Tahun 2013 tentang Cara Penyelenggaraan Laboratorium Klinik yang Baik.

Rosita, L., Pramana, A. A. C., & Arfira, F. R. (2019). Hematologi Dasar. Diakses dari: https://dspace.uii.ac.id/handle/123456789/33788

Salasa, R. A., Rahman, H., & Andiani, A. (2019). Faktor Risiko Diabetes Mellitus Tipe 2 Pada Populasi Asia: A Systematic Review. *Jurnal Biosainstek* 1(1), 95–107. https://doi.org/10.52046/biosainstek.v1i01.306

Sherwood, J. L., Corcoran, C., Brown, H., Sharpe, A. D., Musilova, M., & Kohlmann, A. (2016). *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. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0150197*

Siswanto, J. E., Berlian, T., Putricahya, E., Panggalo, L. V., & Yuniani, L. (2017). 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. https://doi.org/10.14238/sp18.4.2016.270-7

Sundari, S., & Priadi, B. (2020). Teknik Isolasi dan Elektroforesis DNA Ikan Tapah. Buletin Teknik Litkayasa Akuakultur, 17(2), 87-90. http://dx.doi.org/10.15578/blta.17.2.2019.87-90

TianGen. (2020). TIANamp Blood DNA Kit. diakses dari : https://en.tiangen.com/upload/file/20200722/20200722170338_70748.pdf

Triani, N. (2020). Isolasi DNA Tanaman Jeruk dengan Menggunakan Metode CTAB (Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide). *G-Tech: Jurnal Teknologi Terapan*, 3(2), 221-226. https://doi.org/10.33379/gtech.v3i2.419

Wardana, A. C., & Mushlih, M. (2021). *Comparison the Quality of Template DNA Isolated by Column Method with and without Centrifugation. Indonesian Journal of Innovation Studies, 15, 10-21070. https://doi.org/10.21070/ijins.v15i.552*

Willmer, T., Johnson, R., Louw, J., & Pheiffer, C. (2018). *Blood-Based DNA Methylation Biomarkers for Type 2 Diabetes: Potential for Clinical Applications. Frontiers in endocrinology, 9, 744. https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00744*

Zarch, S. M. A., Tezerjani, M. D., Talebi, M., & Mehrjardi, M. Y. V. (2020). *Molecular Biomarkers in Diabetes Mellitus (DM). Medical Journal of The Islamic Republic of Iran, 34, 28. https://doi.org/10.34171/mjiri.34.28*