

**ISOLASI SEKUEN GEN HBS1L-MYB GENOM DARAH PASIEN
β-THALASSEMIA DI RSUD DR. H. ABDUL MOELOEK BANDAR
LAMPUNG**

SKRIPSI

Oleh

**Ferdinie Vira Kirany
2217021147**



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
2026**

**ISOLASI SEKUEN GEN HBS1L-MYB GENOM DARAH PASIEN
β-THALASSEMIA DI RSUD DR. H. ABDUL MOELOEK BANDAR
LAMPUNG**

Oleh

**Ferdinie Vira Kirany
2217021147**

SKRIPSI

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Menyelesaikan
SARJANA SAINS**

Pada

**Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Lampung**



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
2026**

ABSTRAK

ISOLASI SEKUEN GEN HBS1L-MYB GENOM DARAH PASIEN β -THALASSEMIA DI RSUD DR. H. ABDUL MOELOEK BANDAR LAMPUNG

Oleh

FERDINIE VIRA KIRANY

β -thalassemia merupakan penyakit genetik yang disebabkan oleh mutasi pada gen β -globin (HBB) sehingga produksi rantai β -globin menurun atau tidak terbentuk sama sekali. Kondisi ini menyebabkan anemia hemolitik kronis dengan derajat keparahan yang bervariasi. Salah satu faktor genetik yang berperan sebagai modifier dalam menentukan tingkat keparahan β -thalassemia adalah gen HBS1L-MYB yang berlokasi pada kromosom 6q23. Variasi pada daerah ini diketahui berhubungan dengan peningkatan kadar hemoglobin janin (HbF). Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi sekuen gen HBS1L-MYB dari genom pasien β -thalassemia serta menganalisis hubungan kekerabatan sekuens tersebut secara filogenetik. Sampel penelitian berupa darah pasien β -thalassemia yang diperoleh dari RSUD Dr. H. Abdul Moeloek Bandar Lampung. Isolasi DNA genom dilakukan menggunakan *Geneaid Genomic DNA Mini Kit* (Blood/Culture Cell), kemudian dianalisis konsentrasi dan kemurnian menggunakan IMPLEN NanoPhotometer N50. Amplifikasi fragmen gen HBS1L-MYB dilakukan dengan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) menggunakan primer spesifik RS9399137, selanjutnya diverifikasi melalui elektroforesis gel agarosa dan disekuensing menggunakan metode Sanger. Data sekuen yang diperoleh dianalisis menggunakan BLAST untuk mengetahui tingkat kesamaan sekuen serta dianalisis secara filogenetik menggunakan perangkat lunak MEGA. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fragmen gen HBS1L-MYB berhasil diamplifikasi dan disekuensing dengan baik serta memiliki tingkat kemiripan 100% dengan sekuen referensi pada basis data *GenBank*. Analisis filogenetik menunjukkan bahwa sekuen sampel berkelompok dalam satu *clade* dengan sekuen HBS1L-MYB dari populasi lain yang mengindikasikan bahwa fragmen gen ini bersifat relatif konservatif. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi terkait peran gen HBS1L-MYB sebagai modifier genetik pada β -thalassemia.

Kata Kunci : β -thalassemia, HBS1L-MYB, HbF, β -globin, sekuensing, filogenetik

ABSTRACT

ISOLATION OF HBS1L-MYB GENE SEQUENCE FROM β -THALASSEMIA AT DR. H. ABDUL MOELOEK HOSPITAL, BANDAR LAMPUNG

By

FERDINIE VIRIA KIRANY

β -thalassemia is a genetic disorder caused by mutations in the β -globin (HBB) gene, resulting in reduced or absent production of β -globin chains. This condition leads to chronic hemolytic anemia with varying degrees of clinical severity. One of the genetic factors acting as a modifier of β -thalassemia severity is the HBS1L-MYB gene, located on chromosome 6q23. Genetic variation within this region has been associated with increased fetal hemoglobin (HbF) levels, which may alleviate the clinical manifestations of the disease. This study aimed to isolate the HBS1L-MYB gene sequence from the genomic DNA of β -thalassemia patients and to analyze the phylogenetic relationship of the obtained sequences. Blood samples were collected from β -thalassemia patients at Dr. H. Abdul Moeloek Regional General Hospital, Bandar Lampung. Genomic DNA was isolated using the Geneaid Genomic DNA Mini Kit (Blood/Culture Cell), followed by assessment of DNA concentration and purity using the IMPLEN NanoPhotometer N50. Amplification of the HBS1L-MYB gene fragment was performed by Polymerase Chain Reaction (PCR) using the specific primer RS9399137, and the PCR products were verified by agarose gel electrophoresis and subsequently sequenced using the Sanger method. Sequence data were analyzed using BLAST to determine sequence similarity, and phylogenetic analysis was conducted using MEGA software. The results demonstrated that the HBS1L-MYB gene fragment was successfully amplified and sequenced, showing a high level of similarity to reference sequences in the GenBank database. Phylogenetic analysis revealed that the sample sequence clustered within the same clade as HBS1L-MYB sequences from other populations, indicating that this gene fragment is relatively conserved. This study provides baseline molecular data that may support further investigations into the role of the HBS1L-MYB gene as a genetic modifier in β -thalassemia.

Keyword : β -thalassemia, HBS1L-MYB, HbF, β -globin, sequencing, filogenetic.

Judul Skripsi : **ISOLASI SEKUEN GEN HBS1L-MYB GENOM DARAH PASIEN β -THALASSEMIA RSUD. DR. H. ABDUL MOELOEK BANDAR LAMPUNG**

Nama : *Ferdinie Vira Kirany*

NPM : 2217021147

Jurusan/Prodi : Biologi/S1-Biologi

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



1. Komisi Pembimbing

Pembimbing I

Dr. Wawan Abdullah Setiawan, M.Si.
NIP. 197912302008121001

Pembimbing II

**dr. Putu Ristyning Ayu Sangging, M.Kes.,
Sp.PK., Subsp.H.K(K)**
NIP. 231401760222201

2. Mengetahui

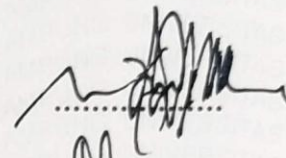
Ketua Jurusan Biologi FMIPA

Dr. Jani Master, S.Si., M.Si
NIP. 198301312008121001

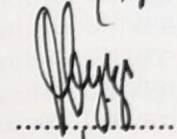
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua Penguji : **Dr. Wawan Abdullah Setiawan, M.Si**



Anggota Penguji : **dr. Putu Ristyaning Ayu Sangging,
M.Kes., Sp.PK., Subsp. H.K(K)**



Penguji Utama : **Gina Dania Pratami, S.Si., M.Si**



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Dr. Eng. Heri Satria, M.Si
NIP. 197110012005011002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: **17 April 2026**

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN KARYA

Saya yang bertanda tangan dibawah ini, menyatakan bahwa skripsi yang berjudul **“Isolasi Sekuen Gen HBS1L-MYB Genom Darah Pasien β -Thalassemia di RSUD. Dr. H. Abdul Moeloek Bandar Lampung”** adalah hasil karya sendiri dan bukan hasil karya orang lain.

Semua hasil yang tertuang dalam skripsi ini telah mengikuti kaidah penulisan karya ilmiah Universitas Lampung. Apabila di kemudian hari terbukti bahwa skripsi ini merupakan hasil salinan atau dibuat oleh orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan ketentuan akademik yang berlaku.

Bandar Lampung, 09 April 2026



Ferdinie Vira Kirany
2217021147

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di kota Metro pada tanggal 23 September 2003. Penulis merupakan anak pertama dari dua bersaudara, Putri dari pasangan Siswo Martoyo dan Fitria Esta Lestari. Penulis telah mengenyam pendidikan tingkat dasar di SD Negeri 4 Metro Timur pada tahun 2010-2016, pendidikan tingkat menengah pertama di SMP Negeri 1 Metro pada tahun 2016-2019, dan pendidikan tingkat menengah atas di SMA Negeri 1 Punggur pada tahun 2019-2022. Pada tahun 2022, penulis diterima sebagai mahasiswa Program Studi S1 Biologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN).

Selama menjadi mahasiswa, penulis mengikuti Unit Kegiatan Mahasiswa ROIS FMIPA, PIK R Raya Unila, dan Aiesec Unila. Penulis juga aktif sebagai asisten praktikum beberapa mata kuliah, diantaranya Praktikum Mikroteknik, Praktikum Mikrobiologi Pangan dan Industri, Praktikum Mikrobiologi Umum, dan Praktikum Biologi Molekuler. Penulis telah melaksanakan Praktik Kerja Lapangan (PKL) di Rumah Sakit Yukum Medical Centre, Yukum Jaya, Lampung Tengah pada Desember 2024-Januari 2025 dan menyelesaikan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Kelurahan Pematang Wangi, Kecamatan Tanjung Senang, Kota Bandar Lampung pada Juli-Agustus 2025. Dalam penyelesaian tugas akhir, penulis memilih bidang keilmuan Biologi Molekuler. Penulis melaksanakan kegiatan penelitian di Laboratorium INALAB DNA Bandar Lampung pada bulan November hingga Desember 2025.

MOTTO

Dan Dia mendapatimu sebagai seorang yang bingung, lalu Dia memberikan petunjuk.

(Q.S. Ad-Duha: 7)

PERSEMBAHAN

Puji syukur kehadiran Allah SWT, Tuhan Yang Maha Esa, atas rahmat dan rida-Nya, penulis persembahkan karya ini kepada:

Bunda tersayang, sumber kekuatan dan cinta yang tak pernah putus, serta adik perempuanku yang menjadi teman seperjalanan dalam senyap dan harapan.

Segenap keluarga besar yang senantiasa memberikan motivasi dan dukungan.

Almamater tercinta, Universitas Lampung.

SANWACANA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT, Tuhan Yang Maha Esa, atas rahmat, nikmat, dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Isolasi Sekuen Gen HBS1L-MYB Genom Darah Pasien β -Thalassemia di RSUD. Dr. H. Abdul Moeloek Bandar Lampung”**.

Mengingat keterbatasan kemampuan penulis dalam melaksanakan penelitian dan penyusunan skripsi ini, penulis telah mendapatkan banyak bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, dengan kerendahan hati penulis menyampaikan rasa hormat dan terima kasih kepada pihak-pihak yang tertera sebagai berikut.

1. Ibu Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, D.E.A., IPM., ASEAN Eng., selaku Rektor Universitas Lampung.
2. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, M.Si., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
3. Bapak Dr. Jani Master, M.Si., selaku Ketua Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
4. Ibu Dr. Kusuma Handayani, M.Si. selaku Ketua Prodi S1-Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
5. Bapak Dr. Wawan Abdullah Setiawan, M.Si., selaku dosen pembimbing I yang telah bersedia memberikan keluangan waktu, kesempatan, arahan, saran dan motivasi selama proses penelitian serta penyusunan skripsi ini.
6. Ibu dr. Putu Ristyning Ayu Sangging, M.Kes., Sp.PK., Subsp. H.K(K), selaku dosen pembimbing II yang telah memberikan arahan dan masukan kepada penulis serta memudahkan setiap proses dalam penyusunan skripsi ini.
7. Ibu Gina Dania Pratami, M.Si selaku dosen pembahas yang telah memberikan banyak arahan, saran, dan kritik dalam proses penyusunan skripsi ini.

8. Ibu Dr. Endah Setyaningrum, M.Biomed, selaku dosen pembimbing akademik.
9. Bunda, Fitria Esta Lestari, yang senantiasa mengusahakan, mendoakan, mendukung, melimpahkan kasih sayang serta mencukupkan segala kebutuhan penulis.
10. Adikku sayang, Dinasty Ratu Perdana yang senantiasa menyemangati dan mendukung setiap proses perjalanan penulis.
11. Sahabatku, Allamanda Cathartica, S.Farm., yang telah kebersamai penulis selama kurang lebih delapan tahun. Terima kasih setia mendengarkan berbagai cerita kehidupan yang dilalui. Dukungan dan doa yang diberikan telah banyak membantu penulis untuk terus bertumbuh hingga saat ini.
12. Sahabat kecilku, Wika Kwana Suci, yang senantiasa mengiringi hampir di setiap lika-liku kehidupan penulis. Terima kasih telah hadir dengan dukungan dan peluk hangat hangat yang selalu ditunggu.
13. Ka Dinda dan ka Diana, yang senantiasa membantu dan mengarahkan penulis dalam mempelajari ilmu molekuler.
14. Teman-teman sayang; Leni, Novita, Rikansa, Lia, Hani dan Risma. Terima kasih selalu hadir dengan dukungan, bantuan, dan banyak waktu yang dihabiskan bersama. Semoga impian kita tetap berjalan beriringan dalam doa.
15. Rekan-rekan penelitian, Chanda, Kafka, dan Desi, yang telah kebersamai penelitian ini hingga selesai.
16. Semua pihak—yang pernah, yang selalu, yang akan—atas bantuan, pelajaran, dan pengajaran yang telah mengantarkan penulis hingga tahap ini.

Akhir kata, penulis sadar sepenuhnya bahwa masih terdapat banyak kekurangan dalam penyusunan skripsi ini, sehingga masih jauh dari kata sempurna. Penulis berharap skripsi ini dapat berguna dan bermanfaat bagi orang-orang yang memerlukannya di masa mendatang.

Bandarlampung, 09 April 2026
Penulis,

Ferdinie Vira Kirany

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR ISTILAH	x
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	2
1.3 Manfaat Penelitian.....	3
1.4 Kerangka Pikiran.....	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Thalassemia.....	4
2.1.1 Etiologi Thalassemia.....	4
2.1.2 Struktur dan Sintesis Hemoglobin	5
2.1.3 Perbedaan α -Thalassemia dan β -Thalassemia	6
2.1.4 Faktor Genetik Penyebab β -Thalassemia.....	7
2.1.5 Gejala Klinis.....	8
2.2 β -Thalassemia.....	8
2.2.1 Genetika Pewarisan β -Thalassemia	9
2.2.2 Klasifikasi β -Thalassemia	10
a. β -Thalassemia Mayor	10
b. β -Thalassemia Intermedia.....	10
c. β -Thalassemia Minor	11
2.3 Gen HBS1L-MYB.....	11
2.3.1 Lokasi Gen HBS1L-MYB	11
2.3.2 Fungsi Biologis Gen HBS1L-MYB	12
a. Regulasi Eritropoesis	12
b. Regulasi HbF	12
2.4 Genom dan DNA.....	13
2.4.1 Struktur Dasar DNA dan Genom Manusia	13
2.5 Teknik Isolasi DNA	14
2.5.1 Metode Isolasi DNA	14
a. Fenol-Kloroform.....	15
b. Kit Komersil	15
2.6 Analisis Konsentrasi dan Kemurnian Menggunakan Spektrofotometer ...	16
2.7 PCR (<i>Polymerase Chain Reaction</i>).....	16

2.7.1	Komponen Reaksi PCR	16
2.7.2	Tahapan PCR	17
2.8	Visualisasi Sekuens DNA dengan Elektroforesis	17
2.9	Sekuen DNA	18
2.9.1	Sanger Sequencing	18
2.9.2	Analisis Filogenetik	19
III.	METODE PENELITIAN.....	20
3.1	Waktu dan Tempat	20
3.2	Populasi dan Sampel	20
3.3	Desain Penelitian.....	20
3.4	Alat dan Bahan	21
3.5.1	Ekstraksi DNA	21
3.5.2	Analisis Konsentrasi dan Kemurnian DNA Hasil Ekstraksi.....	22
3.5.3	PCR	23
3.5.4	Visualisasi Sekuens DNA dengan Elektroforesis	24
3.5.5	Sekuensing Hasil PCR	24
3.5.6	Analisis Filogenetik	24
IV.	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	26
4.1	Isolasi Sekuen Gen HBS1L-MYB	26
4.1.1	Ekstraksi dan Analisis Kemurnian Konsentrasi DNA	26
4.1.2	Amplifikasi Gen HBS1L-MYB menggunakan Metode PCR	27
4.1.3	Visualisasi Hasil Amplifikasi Sekuen DNA dengan Elektroforesis	29
4.2	Analisis Kekerbatan Sekuen Gen HBS1L-MYB	31
4.2.1	Hasil Sekuensing Gen HBS1L-MYB	31
V.	KESIMPULAN.....	39
5.1	Kesimpulan.....	39
5.2	Saran.....	39
	DAFTAR PUSTAKA	40
	LAMPIRAN	46

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. a). Struktur molekul hemoglobin, b). Struktur heme	5
Gambar 2. Lokasi intergenik antara HBS1L dan MYB pada kromosom 6	11
Gambar 3. Struktur untai ganda DNA.....	13
Gambar 4. Diagram Alir Penelitian	25
Gambar 5. Hasil elektroforesis produk PCR. Keterangan: M: Marker 100-1500bp (Sizer DNA Marker iNtRON, Seongnam-si, Korea Selatan), 93LC : Sampel Produk PCR.....	30
Gambar 6. Elektroferogram gen HBS1L-MYB pada sampel 93LC.....	32
Gambar 7. Hasil uji BLAST sampel 93LC	34
Gambar 8. Pohon filogenetik gen HBS1L–MYB sampel 93LC dengan metode Neighbour Joining (NJ) dan model Tamura 3-parameter	36
Gambar 9. Ekstraksi DNA Sampel Darah	47
Gambar 10. Analisis Kemurnian Konsentrasi.....	47
Gambar 11. Visualisasi pita DNA dengan elektroforesis	47
Gambar 12. Sampel darah dalam tabung EDTA.....	47
Gambar 13. Sampel setelah amplifikasi PCR	47
Gambar 14. Primer forward dan reverse RS9399137	47
Gambar 15. Hasil sekuen Alignment	47
Gambar 16. Pairwise distance	47
Gambar 17. Models analysis	47
Gambar 18. Inkubasi ekstraksi sampel darah.....	47
Gambar 19. Kit ekstraksi DNA.....	47
Gambar 20. Elektroforesis sampel	47
Gambar 21. Penimbangan gel agarosa	47

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Sekuen primer RS9399137	23
Tabel 2. Komposisi reagen PCR dalam 1x reaksi amplifikasi DNA	23
Tabel 3. Kemurnian dan konsentrasi DNA sampel darah pasien β -thalassemia...	26
Tabel 4. Tahapan PCR Gen HBS1L-MYB	27

DAFTAR ISTILAH

A260	: Panjang gelombang absorbansi DNA pada 260 nm
A280	: Panjang gelombang absorbansi protein pada 280 nm
A260/A280	: Rasio absorbansi untuk menilai kemurnian DNA
BLAST	: Basic Local Alignment Search Tool
BP	: Base Pair (pasangan basa DNA)
ClustalW	: Cluster Weighted Algorithm (algoritma penyetaraan sekuens)
DNA	: Deoxyribonucleic Acid
dNTP	: Deoxyribonucleotide Triphosphate
EDTA	: Ethylenediaminetetraacetic Acid
FASTA	: Format penyimpanan data sekuens nukleotida atau protein
GB	: Guanidine Buffer
Hb	: Hemoglobin
HbA	: Hemoglobin dewasa utama
HbF	: Hemoglobin janin
HBB	: Hemoglobin Subunit Beta Gene
HBS1L	: HBS1 Like Translational GTPase
IMPLEN	: Merek alat NanoPhotometer untuk analisis DNA
MEGA	: Molecular Evolutionary Genetics Analysis
MYB	: Myeloblastosis Viral Oncogene Homolog
NCBI	: National Center for Biotechnology Information
NJ	: Neighbor Joining
PCR	: Polymerase Chain Reaction
RBC	: Red Blood Cell
RNA	: Ribonucleic Acid
SNP	: Single Nucleotide Polymorphism
TAE	: Tris-Acetate-EDTA
TE	: Tris-EDTA
UV	: Ultraviolet

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Thalassemia merupakan salah satu penyakit genetik yang banyak ditemukan di dunia, termasuk di Indonesia. Penyakit ini ditandai dengan adanya kelainan produksi rantai globin pada hemoglobin berupa penurunan maupun ketiadaan produksi rantai globin tertentu yang menyebabkan terbentuknya hemoglobin abnormal. Pasien thalassemia berakibat mengalami anemia kronis, pembesaran limpa, gangguan pertumbuhan, hingga komplikasi organ vital yang pada akhirnya menurunkan kualitas hidup pasien (Putri & Purwati, 2019). Thalassemia tersebar luas hingga daerah perbatasan Laut Mediterania dimana sebagian besar terdapat di Asia Tenggara sebanyak 40% dari populasi mempunyai satu atau lebih gen thalassemia (Rujito, 2019).

World Health Organization (WHO) memperkirakan sekitar 7% populasi dunia merupakan pembawa sifat thalassemia, dan lebih dari 300.000 bayi lahir setiap tahun dengan kelainan hemoglobin berat. Angka ini menunjukkan bahwa thalassemia masih menjadi masalah kesehatan global yang membutuhkan perhatian serius (WHO, 2021). Thalassemia menjadi salah satu penyakit genetik dengan prevalensi cukup tinggi di Indonesia. Data Kementerian Kesehatan Republik Indonesia menunjukkan bahwa hingga tahun 2022 tercatat lebih dari 12.000 pasien thalassemia yang terdiagnosis dan terus meningkat setiap tahunnya (Serinengsih *et al.*, 2025). Angka tersebut sebenarnya diperkirakan jauh lebih tinggi karena banyak kasus yang belum terdeteksi. Provinsi Lampung, sebagai salah satu wilayah dengan populasi padat di Pulau Sumatera, turut menghadapi permasalahan thalassemia yang signifikan (Rohmah *et al.*, 2022). Berdasarkan data Perhimpunan Orang Tua Penderita Talasemia Indonesia (POPTI) Cabang

Bandar Lampung, RSUD Dr. H. Abdul Moeloek (RSUDAM) tercatat sebagai rumah sakit dengan jumlah penderita thalassemia terbanyak di wilayah tersebut, yaitu sekitar 200 pasien dari total 300 penderita terdata di Kota Bandar Lampung. Kondisi ini menunjukkan bahwa prevalensi thalassemia di daerah Lampung masih cukup tinggi dan berpotensi meningkat (Anggraini *et al.*, 2025)

Thalassemia dibedakan menjadi dua jenis utama, yaitu α -thalassemia dan β -thalassemia (Paloma, 2025). α -thalassemia terjadi akibat mutasi atau delesi pada gen HBA1 dan HBA2 di kromosom 16 yang menyebabkan defisiensi rantai α -globin, sedangkan β -thalassemia disebabkan oleh mutasi pada gen HBB di kromosom 11 yang mengganggu produksi rantai β -globin. Kekurangan rantai α menimbulkan hemoglobin abnormal (HbH dan Hb Bart's), kekurangan rantai β menyebabkan kelebihan rantai α yang merusak eritrosit dan menimbulkan eritropoiesis yang inefektif (Pratama & Kurniati, 2019).

Salah satu gen pengubah (*modifier genes*) pada β -thalassemia yang memiliki peran penting adalah HBS1L-MYB pada kromosom 6q23. Gen ini berperan dalam regulasi ekspresi hemoglobin janin (HbF). HbF diketahui dapat mengurangi keparahan gejala thalassemia karena keberadaannya dapat menggantikan sebagian fungsi hemoglobin dewasa yang abnormal. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa variasi polimorfisme pada daerah intergenik HBS1L-MYB berhubungan dengan kadar HbF yang lebih tinggi, sehingga pasien dengan variasi tertentu dapat mengalami gejala klinis yang lebih ringan (Syafira *et al.*, 2024).

Dengan melakukan analisis molekuler gen HBS1L-MYB, penelitian ini diharapkan dapat mengetahui variasi genetik pada gen HBS1L-MYB serta mampu menjadi informasi bagi penelitian selanjutnya di bidang genetika molekuler.

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah:

1. Mengisolasi sekuen gen HBS1L-MYB dari genom pasien β -thalassemia di RSUD Dr. H. Abdul Moeloek.

2. Menganalisis kekerabatan sekuen gen HBS1L-MYB dari genom pasien β -thalassemia di RSUD Dr. H. Abdul Moeloek secara filogenetik.

1.3 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini untuk memberikan informasi ilmiah mengenai tingkat keragaman genetik pada gen HBS1L-MYB. Informasi mengenai keragaman genetik tersebut dapat digunakan untuk memahami variasi molekuler antarindividu yang dapat menggambarkan perbedaan latar belakang genetik dalam suatu populasi.

1.4 Kerangka Pikiran

β -thalassemia merupakan kelainan genetik akibat mutasi pada gen globin β yang menyebabkan berkurangnya produksi hemoglobin normal. Kondisi ini menimbulkan berbagai manifestasi klinis, mulai dari anemia ringan hingga berat yang dapat menurunkan kualitas hidup pasien. Faktor yang menentukan tingkat keparahan β -thalassemia adalah kadar hemoglobin janin (HbF), dimana peningkatan ekspresi HbF dapat berperan sebagai kompensasi terhadap defisiensi rantai β -globin.

Gen HBS1L-MYB yang terletak pada kromosom 6q23 diketahui berperan sebagai *modifier gene* yang memengaruhi variasi kadar HbF pada individu, termasuk pasien β -thalassemia. Beberapa polimorfisme telah diketahui berkaitan dengan peningkatan ekspresi HbF. Penelitian ini dilakukan melalui beberapa tahapan utama, yaitu mengisolasi DNA genom dari sampel darah pasien β -thalassemia, menganalisis kemurnian dan konsentrasi menggunakan IMPLN NanoPhotometer N50. DNA yang memenuhi kriteria kemudian diamplifikasi menggunakan PCR dengan primer RS9399137 untuk menargetkan fragmen gen HBS1L-MYB. Produk PCR divalidasi menggunakan gel agarosa lalu dianalisis menggunakan metode *Sanger* agar diperoleh urutan nukleotida. Sekuens yang dihasilkan kemudian dibandingkan dengan sekuens referensi melalui BLAST untuk melihat tingkat kesamaan dan kemungkinan adanya variasi nukleotida. Sekuen dianalisis menggunakan menggunakan software MEGA untuk mengetahui kedekatan genetik sampel dengan populasi lain.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 **Thalassemia**

Thalassemia merupakan anemia hemolitik hereditas yang disebabkan oleh gangguan genetik pada pembentukan rantai globin dan bersifat diturunkan. Pada thalassemia, hemoglobin mengalami hemolisis karena adanya gangguan sintesis rantai hemoglobin akibat mutasi genetik sehingga menyebabkan sel darah merah menjadi kaku dan usia sel darah merah menjadi lebih pendek. Thalassemia dibedakan menjadi α -thalassemia dan β -thalassemia menyesuaikan adanya gangguan produksi pada rantai globin tertentu (Musallam *et al.*, 2023).

α -thalassemia disebabkan oleh delesi gen α -globin yang mengakibatkan berkurangnya atau tidak adanya produksi rantai α -globin. β -thalassemia terjadi akibat mutasi titik pada gen β -globin. Mutasi heterozigot (β^+ -thalassemia) menghasilkan β -thalassemia minor di mana rantai beta kurang diproduksi. β -thalassemia mayor disebabkan oleh mutasi homozigot dari gen β -globin, mengakibatkan tidak adanya rantai β sama sekali. Kelebihan rantai α -globin yang tidak berpasangan dalam β -thalassemia berangsur membentuk endapan yang merusak membran sel darah merah dan mengakibatkan hemolisis intravaskular. Jumlah gen thalassemia di Indonesia sendiri berkisar 3-10% dan diperkirakan lebih dari 2000 pengidap dilahirkan setiap tahunnya (Praramdana *et al.*, 2023).

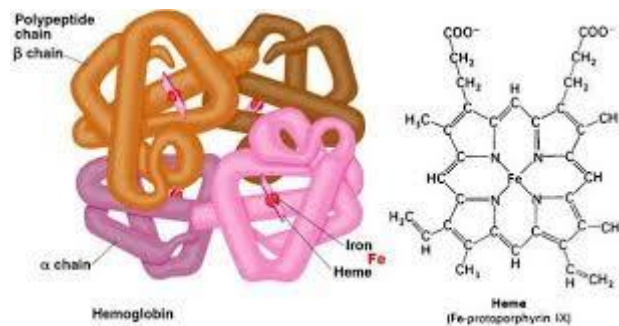
2.1.1 **Etiologi Thalassemia**

Thalassemia bersifat resesif autosom dimana kedua orang tua memengaruhi timbulnya thalassemia pada generasi berikutnya. Hal ini disebabkan oleh mutasi atau delesi gen Hb, yang mengakibatkan produksi kurang atau tidak adanya rantai α atau β . Terdapat lebih dari 200 mutasi

yang diidentifikasi sebagai penyebab Thalassemia. β -Thalassemia disebabkan oleh sejumlah mutasi yang memengaruhi berbagai aspek produksi globin β , seperti transkripsi, translasi, atau stabilitas produk β -globin, hal ini menyebabkan hemoglobin yang rusak, yang rentan terhadap kehancuran. β -thalassemia adalah kelainan resesif autosomal yang disebabkan oleh mutasi gen HbB yang terletak pada kromosom nomor 11, dimana bertanggung jawab dalam sintesis β -globin (Qoriba et al., 2024).

2.1.2 Struktur dan Sintesis Hemoglobin

Hemoglobin terdiri dari dua bagian utama yaitu heme dan globin. Setiap molekul hemoglobin memiliki empat gugus heme identik yang melekat pada empat rantai globin, keempat rantai globin tersebut merupakan rangkaian polipeptida yang terdiri dari atas dua buah rantai α dan dua buah rantai β . Hemoglobin juga memiliki empat molekul nitrogen *protoporphyrin IX* dan empat atom besi dalam bentuk (Fe^{2+}) yang berpasangan dengan *protoporphyrin IX* untuk membentuk empat molekul heme, heme disintesis di mitokondria eritrosit sedangkan globin disintesis di sel muda eritrosit. Struktur hemoglobin dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. a). Struktur molekul hemoglobin, b). Struktur heme (Mazzarella *et al.*, 2018).

Proses pembentukan hemoglobin terjadi di sumsum tulang melalui stadium pematangan, sel darah merah bertransformasi menjadi retikulosit dan menghasilkan hemoglobin. Sel darah merah yang menua menjadi lebih rapuh dan akhirnya pecah, kemudian hemoglobin akan difagositosis oleh limpa, hati, dan sumsum tulang. Struktur hemoglobin terdiri dari cincin

heterosiklik porfirin yang menahan satu atom besi disebut heme. Heme berperan sebagai situs ikatan oksigen pada pusat molekul hemoglobin. Hemoglobin memiliki kapasitas untuk membawa empat molekul oksigen, dan molekul heme mengandung zat besi yang menghantarkan oksigen dan karbondioksida melalui darah. Gugus heme memberikan warna merah pada darah dan strukturalnya terdiri dari komponen organik protoporfirin yang terhubung oleh cincin tetraoirol (Cahyani & Sulastri, 2024).

2.1.3 Perbedaan α -Thalassemia dan β -Thalassemia

α -Thalassemia merupakan kelainan darah yang disebabkan oleh berkurangnya atau hilangnya produksi rantai globin α sedangkan β -Thalassemia merupakan kelainan yang disebabkan oleh berkurangnya atau hilangnya produksi rantai globin β . Kehilangan satu hingga empat gen α globin menentukan keparahan penyakit, mulai dari individu tanpa gejala, penderita dengan anemia ringan, penderita dengan penyakit HbH, hingga kondisi *hydrops fetalis* yang umumnya fatal pada masa janin. Pada β -Thalassemia, gen yang mengkode rantai globin β terletak pada kromosom 11 dan hanya terdiri dari dua salinan. Mutasi pada salah satu atau kedua gen beta globin sehingga produksi rantai β menurun dalam jumlah bervariasi, yang kemudian menentukan bentuk klinis penyakit seperti β -Thalassemia minor, intermedia, maupun mayor. β -Thalassemia umumnya menunjukkan gejala sejak usia dini berupa anemia berat, pembesaran organ hati dan limpa, serta deformitas tulang akibat gangguan eritropoiesis (Paloma, 2025).

α -Thalassemia secara molekuler disebabkan oleh delesi pada satu atau lebih gen α globin sehingga rantai globin α tidak terbentuk dengan sempurna. α -Thalassemia banyak berhubungan dengan delesi genetik yang mengurangi jumlah gen fungsional dimana kekurangan rantai α tersebut menyebabkan ketidakseimbangan pembentukan hemoglobin sehingga tubuh menghasilkan bentuk hemoglobin abnormal seperti Hb Bart's (γ_4) pada janin dan HbH (β_4) pada individu dewasa. Jenis hemoglobin abnormal tersebut bersifat tidak stabil, mudah mengalami denaturasi, dan

akhirnya menyebabkan kerusakan pada sel darah merah serta hemolisis (Faheem *et al.*, 2024). Pada β -Thalassemia lebih sering disebabkan oleh mutasi titik atau gangguan pada regulasi ekspresi gen β globin sehingga β -Thalassemia lebih banyak berhubungan dengan mutasi yang memengaruhi transkripsi, translasi, dan stabilitas mRNA gen globin β . Mutasi tersebut menyebabkan produksi rantai beta globin berkurang (β^+) atau bahkan tidak terbentuk sama sekali (β^0). Kekurangan rantai β globin mengakibatkan rantai α yang berlebih tidak dapat berpasangan secara seimbang, sehingga rantai α bebas tersebut mengendap di dalam eritrosit. Endapan rantai α kemudian merusak membran eritrosit, mengurangi daya tahan sel darah merah, dan akhirnya menyebabkan anemia hemolitik kronis (Ali *et al.*, 2021).

2.1.4 Faktor Genetik Penyebab β -Thalassemia

Mutasi pada gen HBB yang terletak di lengan pendek kromosom 11 menyebabkan gangguan dalam proses sintesis rantai globin β yang merupakan salah satu komponen penting penyusun hemoglobin. Gen HBB berfungsi untuk menghasilkan mRNA yang akan diterjemahkan menjadi rantai globin β dalam jumlah seimbang dengan rantai globin α pada keadaan normal, namun apabila mutasi terjadi proses ini terganggu sehingga produksi rantai globin β menurun (β^+) atau bahkan hilang sama sekali (β^0) (Musallam *et al.*, 2021).

Jenis mutasi yang ditemukan pada β -Thalassemia sangat beragam. Mutasi dapat berupa mutasi titik (*point mutation*) yang mengubah satu basa nitrogen dalam sekuens DNA, dapat pula berupa mutasi nonsense yang menghasilkan kodon stop prematur, sehingga rantai polipeptida globin β terhenti sebelum waktunya. Selain itu, mutasi *missense* menghasilkan perubahan asam amino yang dapat memengaruhi stabilitas protein, sedangkan mutasi *frameshift* akibat insersi atau delesi satu atau lebih basa dapat mengubah seluruh rangka baca mRNA sehingga protein globin beta tidak dapat terbentuk dengan benar. Mutasi juga sering terjadi pada situs splicing, sehingga proses penyambungan mRNA menjadi tidak sempurna,

dan akhirnya mRNA yang dihasilkan tidak dapat diterjemahkan dengan baik. Pada beberapa kasus, mutasi juga terjadi pada daerah promotor gen HBB yang berfungsi mengatur aktivitas transkripsi, sehingga laju transkripsi gen globin beta menurun drastis. Ketika rantai beta tidak dapat diproduksi dengan cukup, rantai α yang jumlahnya tetap normal akan menumpuk di dalam eritroblas. Rantai alfa bebas yang berlebih kemudian akan mengendap dalam sitoplasma sel, akan mengganggu maturasi eritrosit, dan akan merusak membran sel darah merah. Proses ini menyebabkan eritrosit mudah hancur (hemolisis) baik di sumsum tulang maupun dalam sirkulasi darah perifer. Akibat hal tersebut penderita β -thalassemia mengalami anemia hemolitik kronis dengan berbagai derajat keparahan yang bergantung pada jenis dan lokasi mutasi genetik yang dimiliki (Widyastiti *et al.*, 2023).

2.1.5 Gejala Klinis

Keluhan pada β -thalassemia timbul akibat ketidakseimbangan produksi rantai globin α dan β dalam hemoglobin yang menyebabkan eritrosit mudah rusak dan berumur lebih pendek sehingga penderita β -thalassemia menunjukkan gejala anemia kronis. Pada keadaan ringan, penderita dapat mengalami pucat, lemah, dan cepat lelah. Pada tingkat lanjut penderita dapat menunjukkan gejala lebih serius seperti pertumbuhan yang terhambat, perut membesar akibat pembesaran hati dan limpa, serta perubahan bentuk tulang wajah karena sumsum tulang berusaha memproduksi eritrosit secara berlebihan (Suryoadji & Alfian, 2021).

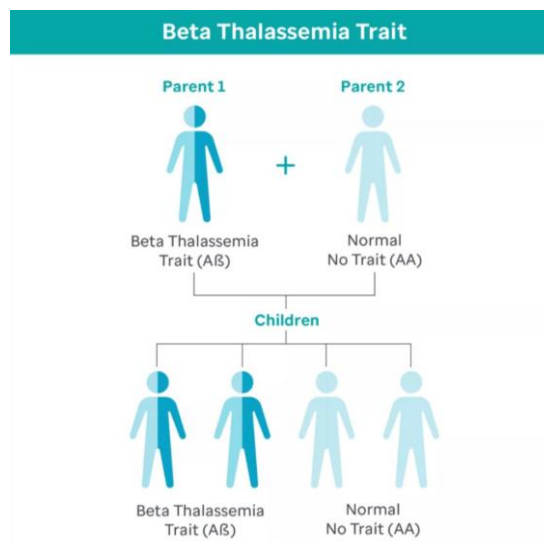
2.2 β -Thalassemia

β -thalassemia merupakan kelainan darah turunan yang disebabkan oleh mutasi genetik maupun delesi pada gen HBB yang berlokasi di kromosom 11p15.5. Mutasi pada gen ini dapat berupa substitusi satu basa (*point mutation*), perubahan pada *splice site*, hingga mutasi nonsens yang menyebabkan berhentinya sintesis rantai β -globin. Selain itu, beberapa kasus β -thalassemia juga dipicu oleh delesi parsial maupun total pada gen HBB sehingga produksi rantai β -globin benar-benar terhenti. Akibat mutasi atau delesi tersebut, terbentuk ketidakseimbangan antara

rantai α dan β -globin, di mana rantai α yang berlebih akan mengendap di dalam eritrosit dan merusak membran sel darah merah (Piehler *et al.*, 2024)

2.2.1 Genetika Pewarisan β -Thalassemia

Pewarisan β -thalassemia mengikuti pola autosomal resesif dimana suatu kondisi genetik yang terjadi apabila seseorang mewarisi dua alel gen mutan dari kedua orang tuanya. Gen yang terlibat dalam kondisi ini adalah gen β -globin yang berperan dalam pembentukan hemoglobin. Apabila seseorang hanya mewarisi satu alel mutan dan satu alel normal, individu tersebut disebut sebagai *carrier* atau pembawa sifat. *Carrier* umumnya tidak menunjukkan gejala klinis yang berat, tetapi tetap dapat menurunkan alel mutan tersebut pada keturunannya sehingga kombinasi genetik antara kedua orang tua sangat menentukan kemungkinan kondisi genetik anak yang akan dilahirkan. Pola pewarisan sifat pada β -thalassemia dapat dilihat seperti pada Gambar 2.



Gambar 2. Pola pewarisan sifat pada β -thalassemia (St. Jude Children's Research Hospital, 2026).

Apabila kedua orang tua merupakan *carrier*, maka kemungkinan 25% anak normal, 50% menjadi *carrier*, dan 25% menderita thalassemia. Jika salah satu orang tua *carrier* dan yang lainnya normal, anak memiliki peluang 50% menjadi *carrier* dan 50% normal tanpa mengalami penyakit. Sementara itu, apabila salah satu orang tua merupakan penderita

thalassemia, risiko anak untuk mewarisi alel mutan akan meningkat, dan pada kondisi tertentu seluruh keturunan dapat mengalami thalassemia apabila kedua orang tua sama-sama membawa alel mutan.

2.2.2 Klasifikasi β -Thalassemia

β -Thalassemia diklasifikasikan berdasarkan tingkat keparahan klinis dan kebutuhan transfusi darah yang bertujuan untuk mempermudah penentuan diagnosis dan tatalaksana pasien. β -thalassemia dibagi menjadi tiga kelompok utama, yaitu thalassemia minor, thalassemia intermedia, dan thalassemia mayor. Pembagian ini ditentukan oleh perbedaan manifestasi klinis, kadar hemoglobin, serta ketergantungan pasien terhadap transfusi darah (Liansyah & Herdata, 2018).

a. β -Thalassemia Mayor

β -thalassemia mayor merupakan bentuk paling berat yang umumnya disebabkan oleh kombinasi mutasi β^0/β^0 atau β^0/β^+ pada gen β -globin. Mutasi β^0 menyebabkan tidak adanya produksi rantai β -globin, sedangkan mutasi β^+ masih memungkinkan produksi β -globin dalam jumlah sangat sedikit. Akibat gangguan produksi rantai β -globin yang berat, penderita mengalami anemia berat sejak usia dini dan biasanya memerlukan transfusi darah secara rutin untuk mempertahankan kadar hemoglobin.

b. β -Thalassemia Intermedia

β -thalassemia intermedia merupakan bentuk dengan tingkat keparahan sedang yang biasanya disebabkan oleh kombinasi mutasi seperti β^+/β^+ atau β^0/β^+ dengan efek mutasi yang lebih ringan. Pada kondisi ini produksi rantai β -globin masih terjadi dalam jumlah terbatas sehingga anemia yang dialami tidak seberat pada β -thalassemia mayor. Pasien umumnya tidak memerlukan transfusi darah secara rutin, meskipun transfusi dapat diperlukan pada kondisi tertentu.

c. β -Thalassemia Minor

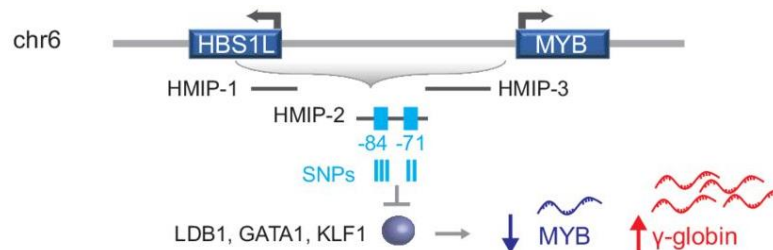
β -thalassemia minor terjadi pada individu heterozigot yang memiliki kombinasi genotipe β/β^0 atau β/β^+ , yaitu satu alel normal dan satu alel mutan. Individu dengan kondisi ini biasanya tidak menunjukkan gejala klinis yang signifikan atau hanya mengalami anemia ringan. Meskipun demikian, individu tersebut berperan sebagai carrier yang dapat menurunkan alel mutasi β -globin kepada keturunannya.

2.3 Gen HBS1L-MYB

Gen HBS1L-MYB merupakan salah satu *gene modifier* yang berperan penting dalam memodulasi fenotipe pada β -thalassemia. *Gene modifier* bukan merupakan penyebab utama penyakit, namun keberadaannya dapat memengaruhi tingkat keparahan manifestasi klinis melalui regulasi ekspresi gen lain yang berhubungan dengan produksi hemoglobin. Variasi genetik atau polimorfisme pada HBS1L-MYB dapat menyebabkan peningkatan produksi HbF, sehingga gejala klinis penderita menjadi lebih ringan (Bashir *et al.*, 2021).

2.3.1 Lokasi Gen HBS1L-MYB

Gen HBS1L-MYB terletak pada kromosom 6, pada daerah 6q23 yang merupakan wilayah intergenik antara gen HBS1L dan gen MYB. Daerah intergenik ini tidak mengkode protein secara langsung, tetapi memiliki peranan regulasi penting dalam proses hematopoiesis. Lokasi 6q23 ini dikenal sebagai salah satu *quantitative trait locus* (QTL) yang berhubungan dengan kadar HbF dalam darah dimana dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Lokasi intergenik antara HBS1L dan MYB pada kromosom 6 (Antoniani *et al.*, 2017)

Polimorfisme di wilayah ini memengaruhi aktivitas regulasi gen MYB yang berperan dalam proliferasi dan diferensiasi sel prekursor eritroid, sehingga berdampak langsung pada variasi kadar HbF antar individu (Jeradi *et al.*, 2021).

2.3.2 Fungsi Biologis Gen HBS1L-MYB

Lokus HBS1L-MYB berperan sebagai daerah genetik penting yang mengatur berbagai proses seluler melalui produk gennya masing-masing yang berperan dalam menjaga kestabilan fungsi seluler serta keseimbangan pertumbuhan sel, sehingga variasi pada wilayah ini dapat berdampak pada berbagai kondisi biologis dan klinis.

a. Regulasi Eritropoesis

Eritropoesis adalah proses pembentukan sel darah merah dari sel induk hematopoietik di sumsum tulang. Pada orang dewasa, tubuh memproduksi sekitar 2 juta sel darah merah per detik, dan tiap sel darah merah akan beredar selama ± 120 hari. Proses pembentukan sel darah merah dari sel prekursor hingga matang memakan waktu sekitar 7–10 hari. Gen berperan sebagai faktor transkripsi yang memengaruhi laju proliferasi dan diferensiasi sel prekursor eritroid. Dengan demikian, variasi genetik pada HBS1L-MYB dapat memengaruhi efisiensi eritropoesis, yang berdampak pada jumlah dan kualitas sel darah merah yang terbentuk (Syafira *et al.*, 2024).

b. Regulasi HbF

Produksi HbF dikendalikan oleh berbagai faktor genetik dan epigenetik. Pada keadaan normal, HbF ($\alpha_2\gamma_2$) diekspresikan tinggi selama fase janin dan menurun setelah lahir, digantikan oleh hemoglobin dewasa atau HbA ($\alpha_2\beta_2$). Peralihan ini penting karena HbF berguna untuk menarik oksigen dari darah ibu melalui plasenta. Setelah lahir, terlalu banyak HbF akan mengurangi pelepasan oksigen ke jaringan tubuh. Produksi HbA yang lebih efisien dalam melepaskan oksigen memungkinkan metabolisme bayi dan anak berjalan optimal.

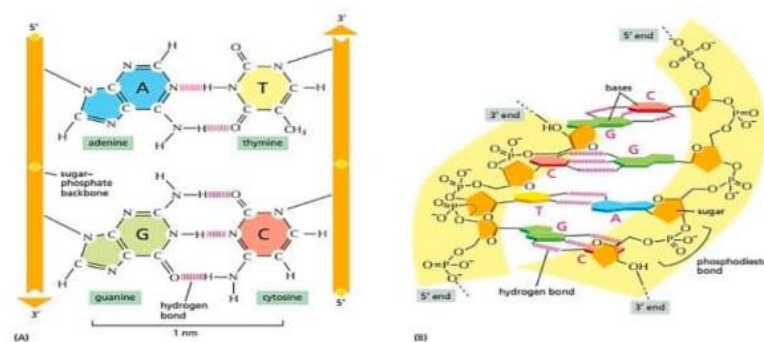
Regulasi ekspresi HbF melibatkan gen utama seperti HBB serta gen modifikasi termasuk BCL11A, KLF1, dan HBS1L-MYB. Variasi genetik tertentu pada HBS1L-MYB dapat menurunkan ekspresi MYB sehingga γ -globin dilepas, kadar HbF meningkat. HbF yang lebih tinggi ini dapat menggantikan sebagian fungsi HbA yang hilang akibat kekurangan rantai β -globin, sehingga anemia dan gejala klinis β -thalassemia menjadi lebih ringan (Mohammad *et al.*, 2022).

2.4 Genom dan DNA

Genom adalah keseluruhan materi genetik yang dimiliki oleh suatu organisme, mencakup semua informasi yang diperlukan untuk pertumbuhan, perkembangan, dan fungsi biologis yang tersusun atas berbagai macam informasi genetik berupa DNA (*deoxyribonucleic acid*). DNA tersusun dalam bentuk heliks ganda yang stabil, di mana urutan basa menentukan kode genetik yang mengarahkan sintesis protein dan RNA (Sudrajat *et al.*, 2021).

2.4.1 Struktur Dasar DNA dan Genom Manusia

Struktur dasar DNA terdiri dari rantai polinukleotida ganda yang membentuk heliks ganda, dengan struktur utama berupa gula deoksiribosa dan gugus fosfat, sedangkan basa nitrogen membentuk pasangan spesifik melalui ikatan hidrogen dimana adenin (A) berpasangan dengan timin (T) dan sitosin (C) berpasangan dengan guanin (G). Struktur ini memungkinkan DNA menyimpan informasi genetik dengan stabil dan dapat direplikasi secara akurat (Azahra *et al.*, 2025). Struktur DNA dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Struktur untai ganda DNA (Alberts *et al.*, 2014)

Berdasarkan struktur kimianya, pasangan basa pada DNA terjadi karena komplementaritas pola donor dan akseptor atom hidrogen pada masing-masing basa. Adenin (A) adalah basa purin dengan cincin ganda yang memiliki gugus amino ($-\text{NH}_2$) pada posisi 6 dan nitrogen pada posisi 1 yang dapat membentuk ikatan hidrogen dengan timin (T), yang merupakan basa pirimidin dengan gugus karbonil ($=\text{O}$) pada posisi 4 dan gugus metil ($-\text{CH}_3$) pada posisi 5. Adenin membentuk dua ikatan hidrogen dengan timin: satu antara atom hidrogen gugus amino A dengan atom oksigen T, dan satu antara nitrogen T dengan hidrogen dari A. Sementara itu, guanin (G), yang juga purin, memiliki gugus karbonil pada posisi 6 dan gugus amino pada posisi 2, dapat membentuk tiga ikatan hidrogen dengan sitosin (C), pirimidin dengan gugus amino pada posisi 4 dan karbonil pada posisi 2. Susunan ini memungkinkan terbentuknya ikatan hidrogen tiga titik, sehingga G–C lebih stabil dibandingkan A–T (Yudianto, 2020).

2.5 Teknik Isolasi DNA

Isolasi DNA adalah proses untuk memisahkan DNA dari komponen lain di dalam sel sehingga diperoleh DNA murni yang dapat digunakan untuk berbagai analisis molekuler. Proses ini melibatkan tahapan utama berupa pemecahan membran sel untuk melepaskan organel sel agar DNA terpisahkan dari protein, lipid, dan molekul lain, serta pemurnian agar diperoleh DNA dengan kualitas baik. Isolasi DNA dapat dilakukan dari berbagai sumber biologis, seperti darah, jaringan, tanaman, maupun mikroorganisme. Hasil isolasi DNA yang baik akan sangat menentukan keberhasilan tahap analisis selanjutnya, misalnya PCR, dan sekuensing (Buchori *et al.*, 2023).

2.5.1 Metode Isolasi DNA

Isolasi DNA digunakan untuk memisahkan DNA dari sel atau jaringan melalui tahapan tertentu. Ada beberapa metode yang umum digunakan, misalnya metode kimiawi dengan fenol-kloroform yang melibatkan penggunaan pelarut organik untuk memisahkan DNA dari protein, metode enzimatik yang memanfaatkan enzim protease untuk menguraikan protein pengikat DNA, serta metode berbasis kolom silika atau membran yang

kini banyak digunakan dalam kit komersial karena lebih cepat, sederhana, dan menghasilkan DNA berkualitas tinggi (Arianti & Sianturi, 2019).

a. Fenol-Kloroform

Metode fenol-kloroform adalah salah satu teknik isolasi DNA yang memanfaatkan sifat kimiawi pelarut organik untuk memisahkan DNA dari protein dan komponen sel lainnya. Prinsip dasarnya adalah perbedaan kelarutan antara DNA dan protein ketika dicampur dengan fenol serta kloroform. Pada tahap awal sel dilisis untuk melepaskan isi sel, kemudian ditambahkan fenol-kloroform yang akan mengendapkan protein serta lipid, sementara DNA tetap berada pada fase air. Setelah sentrifugasi, terbentuk dua lapisan berupa fase organik di bagian bawah yang mengandung protein terdenaturasi dan lipid, serta fase air di bagian atas yang mengandung DNA. Fase air ini kemudian dipisahkan dan DNA diendapkan menggunakan alkohol seperti etanol atau isopropanol. Dengan prinsip pemisahan berdasarkan kelarutan ini, metode fenol-kloroform mampu menghasilkan DNA dengan kemurnian tinggi, meskipun memerlukan waktu lebih lama dan melibatkan penggunaan bahan kimia berbahaya (Safitri, 2024).

b. Kit Komersil

Teknik isolasi DNA dengan kit komersil merupakan metode modern yang dirancang agar lebih cepat, praktis, dan aman dibandingkan metode konvensional. Prinsip utama teknik ini adalah pengikatan DNA pada matriks silika di dalam spin column atau partikel khusus, kemudian diikuti tahap pencucian untuk menghilangkan kontaminan, dan diakhiri dengan elusi untuk melepaskan DNA murni. Proses dimulai dengan lisis sel menggunakan buffer yang sudah diformulasi khusus dalam kit, sehingga membran sel hancur dan DNA keluar. Selanjutnya, campuran sampel dimasukkan ke dalam *spin column*, di mana DNA akan berikatan dengan membran silika dalam kondisi tertentu, sementara protein dan sisa sel dibuang melalui proses sentrifugasi. Setelah dilakukan beberapa kali pencucian dengan *buffer*

wash untuk memastikan kontaminan hilang, DNA murni dilepaskan dari membran dengan menambahkan buffer elusi atau air bebas nuklease (Buchori *et al.*, 2023).

2.6 Analisis Konsentrasi dan Kemurnian Menggunakan Spektrofotometer

Spektrofotometer digunakan untuk mengukur konsentrasi serta kemurnian DNA, RNA, maupun protein. Prinsip kerja alat tersebut didasarkan pada penyerapan cahaya ultraviolet oleh asam nukleat atau protein pada panjang gelombang tertentu, misalnya DNA dan RNA pada 260 nm serta protein pada 280 nm. Dengan membutuhkan volume sampel yang sangat kecil (1–2 μL), IMPLEN NanoPhotometer 50 mampu memberikan hasil pengukuran secara cepat dan akurat tanpa memerlukan kuvet atau tabung khusus. Selain konsentrasi, alat ini juga menampilkan rasio kemurnian seperti A260/A280 dan A260/A230, yang dapat menunjukkan ada tidaknya kontaminasi protein, fenol, atau senyawa lain (Mollah *et al.*, 2023).

2.7 PCR (*Polymerase Chain Reaction*)

Polymerase Chain Reaction (PCR) adalah teknik biologi molekuler yang digunakan untuk memperbanyak fragmen DNA secara cepat dan spesifik secara *in vitro*. Prinsip dasarnya adalah memanfaatkan enzim DNA polimerase yang tahan panas untuk menggandakan segmen DNA target melalui siklus berulang yang terdiri atas denaturasi, penempelan primer (*annealing*), dan perpanjangan rantai DNA (*elongasi*). Dengan sedikit template DNA, PCR mampu menghasilkan jutaan salinan dalam waktu singkat. Karena kecepatan, sensitivitas, dan spesifisitasnya, PCR banyak digunakan dalam berbagai bidang, seperti penelitian genetik, diagnosis penyakit infeksi, identifikasi forensik, hingga deteksi mutasi genetik (Setyawati & Zubaidah, 2021).

2.7.1 Komponen Reaksi PCR

Komponen pertama dalam PCR adalah DNA template, yaitu potongan DNA yang menjadi target untuk diperbanyak. Teknik PCR dapat menjadi lebih sederhana dengan menggunakan master mix, yaitu campuran siap

pakai yang biasanya sudah berisi buffer, dNTP, Mg^{2+} , serta DNA polimerase tahan panas. Selain master mix, diperlukan pula primer berupa oligonukleotida pendek yang dirancang spesifik untuk menempel pada sisi awal dan akhir fragmen DNA target, sehingga menentukan area yang akan diamplifikasi. Primer berfungsi menentukan daerah DNA yang akan diamplifikasi, sedangkan DNA template adalah fragmen DNA yang ingin diperbanyak. Selain itu, sering digunakan larutan TE (Tris-EDTA) sebagai pelarut atau penyimpan DNA karena mampu menjaga kestabilan pH sekaligus melindungi DNA dari degradasi oleh enzim nuklease. Dengan kombinasi komponen tersebut, reaksi PCR dapat berlangsung efisien, stabil, dan menghasilkan amplifikasi DNA sesuai target (Yuenleni, 2019).

2.7.2 Tahapan PCR

PCR memiliki tiga tahapan utama dalam proses amplifikasi DNA. Tahap pertama denaturasi yang terjadi pada suhu $94-95^{\circ}C$. Pada tahap ini, panas memutuskan ikatan hidrogen pada heliks ganda DNA sehingga untai ganda DNA terpisah menjadi dua untai tunggal. Tahap kedua adalah penempelan primer yang berlangsung pada suhu $50-65^{\circ}C$. Pada tahap ini primer menempel pada untai DNA cetakan sehingga bagian target DNA dapat dikenali secara spesifik. Tahap ketiga adalah pemanjangan yang terjadi pada suhu $72^{\circ}C$. Pada tahap ini, enzim DNA polimerase menambahkan nukleotida baru pada ujung primer sehingga terbentuk rantai DNA yang identik dengan cetakan. Ketiga tahapan tersebut membentuk satu siklus PCR yang kemudian diulang sebanyak 25–40 kali sehingga jumlah DNA target bertambah secara eksponensial (Widodo, 2025).

2.8 Visualisasi Sekuens DNA dengan Elektroforesis

Elektroforesis merupakan suatu teknik pemisahan molekul bermuatan listrik, seperti DNA, RNA, maupun protein, yang didasarkan pada perbedaan ukuran dan muatan listrik molekul tersebut dalam suatu medan listrik. Elektroforesis digunakan untuk memverifikasi hasil amplifikasi DNA melalui teknik PCR serta

memastikan keberadaan fragmen gen target yang diharapkan. Molekul DNA bermuatan negatif karena keberadaan gugus fosfat sehingga ketika dialiri arus listrik molekul tersebut akan bergerak menuju elektroda positif (anoda). Prinsip kerja elektroforesis didasarkan pada pergerakan molekul bermuatan negatif (DNA) melalui medium gel agarosa menuju elektroda positif di bawah pengaruh medan listrik. Fragmen DNA berukuran kecil akan bergerak lebih cepat melewati pori-pori gel dibandingkan fragmen berukuran besar, sehingga terjadi pemisahan berdasarkan ukuran fragmen DNA (Wardi *et al.*, 2023).

2.9 Sekuen DNA

Sekuens DNA adalah urutan basa nitrogen yang tersusun dari adenin (A), timin (T), sitosin (C), dan guanin (G) pada molekul DNA. Urutan basa ini bersifat spesifik dan menyimpan informasi genetik yang menentukan pembentukan protein serta pengaturan fungsi sel. Analisis sekuens DNA sangat penting dalam biologi molekuler karena dapat digunakan untuk mengidentifikasi variasi genetik, mempelajari hubungan evolusi, maupun mendiagnosis penyakit berbasis gen. Teknologi modern, seperti *Sanger Sequencing* dan *Next-Generation Sequencing* (NGS), memungkinkan peneliti membaca urutan basa dengan cepat dan akurat (Viyati *et al.*, 2023).

2.9.1 Sanger Sequencing

Metode *Sanger Sequencing* diterapkan untuk menentukan urutan basa nukleotida pada DNA sehingga dapat mengetahui susunan gen atau fragmen DNA tertentu yang sedang diteliti. Prinsip dari metode *Sanger sequencing* didasarkan pada terminasi rantai DNA dengan menggunakan dideoksinukleotida trifosfat (ddNTP) yang tidak memiliki gugus 3'-OH, sehingga ketika ddNTP terintegrasi, proses perpanjangan rantai DNA berhenti. Dengan mencampurkan ddNTP berlabel fluoresen atau radioaktif bersama deoksinukleotida biasa (dNTP), akan terbentuk fragmen DNA dengan panjang bervariasi sesuai posisi terminasi. Fragmen-fragmen ini kemudian dipisahkan menggunakan elektroforesis kapiler atau gel, dan sinyal dari label yang terdeteksi memungkinkan penyusunan kembali urutan basa DNA target secara berurutan (Shuhaib & Hashim, 2023).

2.9.2 Analisis Filogenetik

Analisis filogenetik adalah suatu metode dalam biologi molekuler dan evolusi untuk mempelajari hubungan kekerabatan antar organisme berdasarkan data genetik, morfologi, maupun molekuler. Prinsipnya dengan membandingkan urutan DNA, RNA, atau protein untuk mengidentifikasi tingkat kesamaan dan perbedaan sehingga dapat direkonstruksi pohon filogenetik yang menggambarkan jalur evolusi suatu spesies. Dengan bantuan perangkat lunak bioinformatika, analisis filogenetik dapat memberikan gambaran visual tentang sejarah evolusi dan hubungan antar organisme secara lebih akurat (Oktafia & Badruzsauhari, 2021).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada September-Desember 2025 di laboratorium INALAB DNA pada tahap ekstraksi, amplifikasi dengan metode PCR dan visualisasi dengan elektroforesis serta laboratorium biokimia fakultas kedokteran Universitas Lampung pada pengukuran konsentrasi dan kemurnian sampel DNA.

3.2 Populasi dan Sampel

Populasi dalam penelitian ini adalah 10 sampel darah pasien β -thalassemia yang dipilih secara acak dari RSUD Dr. H. Abdul Moeloek Bandar Lampung. Dari seluruh populasi tersebut, dilakukan pemenuhan kualitas sehingga 1 sampel yang memiliki hasil elektroferogram terbaik dilanjutkan untuk analisis lebih lanjut.

Setiap sampel dalam penelitian ini diberi kode identifikasi untuk mempermudah prosedur penelitian. Kode sampel disusun dari kombinasi huruf dan angka. 93 yang menunjukkan 2 angka awal pada primer yang digunakan disertai 2 huruf tambahan yang menunjukkan inisial pasien pada sampel darah β -Thalassemia.

3.3 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif kualitatif dengan pendekatan eksperimental. Seluruh populasi dianalisis melalui rangkaian prosedur meliputi isolasi DNA menggunakan *Geneaid Genomic DNA Mini Kit*, pengukuran konsentrasi serta kemurnian DNA menggunakan IMPLEN NanoPhotometer N50 dan amplifikasi fragmen target HBS1L-MYB menggunakan metode PCR. Hasil PCR diverifikasi melalui elektroforesis gel agarosa untuk melihat keberhasilan amplifikasi. Selanjutnya dilanjutkan ke tahap sekuensing Sanger. Dari 10 sampel dipilih 1 sampel terbaik berdasarkan hasil elektroferogram yang diperoleh dari

tahap sekuensing Sanger untuk dianalisis lebih lanjut menggunakan BLAST dengan melakukan penyelarasan sekuens. Tahap akhir adalah analisis filogenetik menggunakan perangkat lunak MEGA untuk menentukan hubungan kekerabatan sekuens sampel dengan sekuens yang telah terdeposit di *GeneBank*.

3.4 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini ialah tabung Eppendorf 2 ml dan 1,5 ml untuk mencampur, menyimpan dan memproses sampel, laminar UV untuk menyediakan area kerja yang steril, *autoclave* untuk sterilisasi alat, *centrifuge* untuk memisahkan larutan menjadi 2 fasa, freezer untuk menjaga sampel dan bahan dalam keadaan suhu rendah, *vortex* untuk menghomogenkan larutan, oven 37°C dalam proses inkubasi pada ekstraksi sampel, mikropipet 0,2-20 µl dan 20-1000 µl untuk mengambil larutan, tip biru (200-1000µl) dan tip putih (0,5-10 µl) untuk memindahkan larutan, *Thermocycle (Sensoquest, Jerman)* digunakan pada metode PCR, IMPLEN NanoPhotometer N50 untuk analisis kuantitas dan kualitas hasil PCR, dan *myGel Mini Electrophoresis* untuk visualisasi hasil amplifikasi.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini ialah sampel darah pasien β-Thalassemia, alkohol 70% untuk sterilisasi, Primer RS93399137 dengan Primer *Forward* sekuens 5'-TGGGGTGGGAGAAGAAATAA-3' dan primer *Reverse* 5'AGAAGCACTTTGGCAAGCAT-3' (Chen *et al.*, 2021) untuk menentukan target amplifikasi, *Geneaid Genomic DNA Mini Kit Blood/Culture Cell* (Taiwan) untuk proses ekstraksi, kit pereaksi PCR untuk proses amplifikasi, gel agarose untuk membuat media pada proses elektroforesis dan *redsafe* sebagai pewarna dalam visualisasi pita DNA.

3.5 Metode Kerja

3.5.1 Ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA dilakukan menggunakan *Geneaid Genomic DNA Mini Kit Blood/Culture Cell* (Taiwan). Sampel darah *whole blood* dalam tabung EDTA-Na diambil sebanyak 300 µl untuk ditransfer dalam tabung mikrosentrifuge 1,5 ml. Buffer lisis RBC ditambahkan sebanyak 900 µl,

dihomogenkan secara inversi dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu ruang. Sampel disentrifuge dengan kecepatan 10.000 rpm selama 5 menit, supernatan yang terbentuk dibuang. Pelet yang didapat disuspensi ulang menggunakan buffer lisis RBC sebanyak 100 μ l setelah itu di homogenkan menggunakan sentrifuge.

Buffer GB ditambahkan sebanyak 250 μ l ke dalam tabung, dibolak-balik secara perlahan. Sampel diinkubasi pada suhu 60°C selama 10 menit dengan diinversi setiap 3 menit. Etanol absolut ditambahkan sebanyak 250 μ l, dihomogenkan menggunakan vortex selama 10 detik. Campuran tersebut dimasukkan dalam GD Columb, disentrifuge dengan kecepatan 10.000 rpm selama 2 menit. GD Columb dipindahkan ke tabung koleksi baru. Buffer W1 ditambahkan sebanyak 400 μ l dan disentrifuge selama 2 menit. Aliran buangan dibuang kemudian ditambahkan 600 μ l buffer wash untuk kembali di sentrifuge dengan parameter yang sama. Aliran buangan dibuang kembali, dikeringkan dengan sentrifugasi tambahan selama 3 menit.

GD Columb dipindahkan dalam tabung mikrosentrifuge baru. Buffer elution yang telah dipanaskan pada suhu 60°C ditambahkan sebanyak 100 μ l pada pusat matriks kolom. Sampel didiamkan selama 3 menit, disentrifuge dengan kecepatan 10.000 rpm selama 1 menit untuk memperoleh DNA murni.

3.5.2 Analisis Konsentrasi dan Kemurnian DNA Hasil Ekstraksi

Analisis konsentrasi dan kemurnian DNA hasil ekstraksi dilakukan menggunakan IMPLEN NanoPhotometer N50. Sampel DNA hasil diteteskan sebanyak $\pm 1-2$ μ L pada permukaan sensor, alat akan mengukur absorbansi pada panjang gelombang 260 nm dan 280 nm. Nilai absorbansi pada 260 nm digunakan untuk menentukan konsentrasi DNA, sedangkan rasio A260/A280 digunakan untuk menilai tingkat kemurnian DNA dari kontaminan protein atau senyawa lain. Rasio kemurnian DNA yang baik umumnya berada pada kisaran 1,8–2,0. Hasil pengukuran dicatat dan

digunakan untuk memastikan bahwa DNA yang diperoleh memiliki konsentrasi cukup tinggi dan tingkat kemurnian yang memenuhi syarat untuk analisis molekuler selanjutnya.

3.5.3 PCR

Hasil ekstraksi DNA yang diperoleh dilanjutkan menggunakan metode PCR dengan primer RS9399137. Pasangan primer yang digunakan dalam amplifikasi dan komposisi PCR yang digunakan dapat dilihat pada Tabel 1 dan 2.

Tabel 1. Sekuen primer RS9399137

Primer	Sekuen Primer (5'-3')	Ukuran Pita
RS9399137-F	5'-TGGGGTGGGAGAAGAAATAA-3'	±300 bp
RS9399137-R	5'-AGAAGCACTTTGGCAAGCAT-3'	±300 bp

Tabel 2. Komposisi reagen PCR dalam 1x reaksi amplifikasi DNA

Campuran	Volume
Mastermix <i>MyTaq</i> TM	10,5 µl
Primer <i>Forward</i> RS9399137	0,25 µl
Primer <i>Reverse</i> RS9399137	0,25 µl
Buffer TE	8 µl
DNA <i>Template</i>	2 µl

Campuran pereaksi PCR terdiri dari 10,5 µl *mastermix MyTaq*TM, 0,25 µl primer *forward*, 0,25 µl primer *reverse*, 8 µl buffer TE, dan 2 µl DNA *template*. Proses *mixing* dilakukan didalam laminar kemudian pereaksi PCR dimasukkan kedalam tube PCR. Program pada alat *thermocycle* diatur yang terdiri atas 5 tahapan, yaitu tahap denaturasi awal (95°C selama 5 menit), tahap denaturasi (95°C selama 30 detik), tahap penempelan primer (56°C selama 40 detik), tahap pemanjangan (72°C selama 40 detik), tahap pemanjangan akhir (72°C selama 5 menit) dan tahap pendinginan (25°C selama 10 menit). Siklus diulang sebanyak 35 kali. Hasil PCR disimpan dalam lemari pendingin dengan suhu 4°C supaya menjaga DNA dari kerusakan.

3.5.4 Visualisasi Sekuens DNA dengan Elektroforesis

DNA hasil PCR divisualisasi dengan elektroforesis gel agarosa 1,2%. Gel agarosa dibuat dengan melarutkan 0,48 g gel agarosa dalam 40 ml buffer TAE 1x lalu dimasak \pm 15 menit hingga mendidih dan homogen yang ditandai dengan larutan menjadi bening. Didinginkan selama \pm 15 menit, larutan gel agarosa ditambahkan 2 μ l larutan *redsafe* lalu dihomogenkan. Sisir elektroforesis dipasang pada trai, larutan gel agarosa dituangkan. DNA marker dimasukkan sebanyak 7 μ l ke bagian tengah sumuran lalu dimasukkan 5 μ l DNA hasil PCR dimasukkan dalam sumuran lainnya setelah gel memadat. Proses elektroforesis dijalankan selama 25 menit dengan arus listrik 100 volt. Pita DNA pada gel diamati dengan sinar ultraviolet menggunakan *gel doc*.

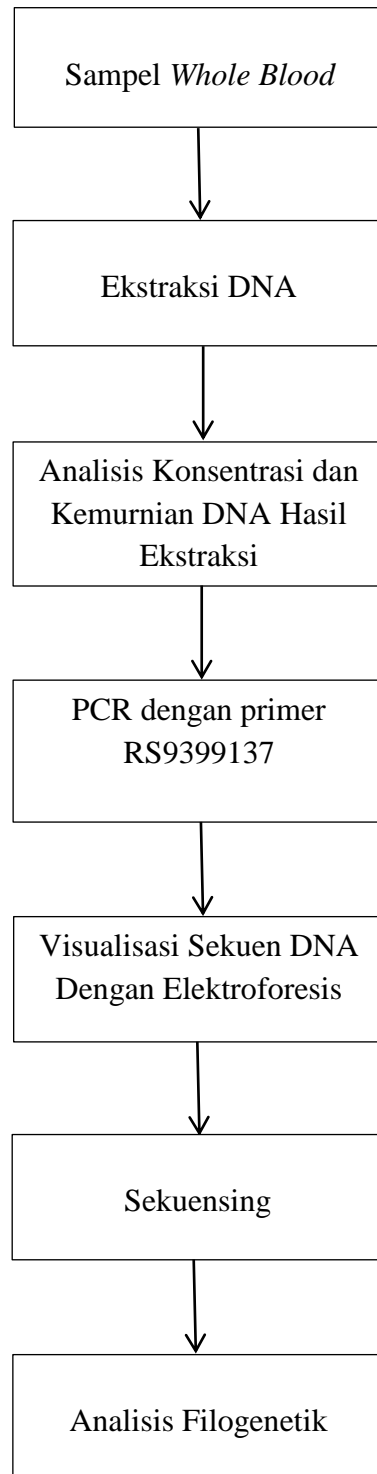
3.5.5 Sekuensing Hasil PCR

Hasil PCR yang telah tervisualisasi adanya pita ampikon disekuensing dengan metode *Sanger* melalui penyedia jasa sekuensing. Sampel yang dikirimkan berupa produk hasil PCR sebanyak 10 μ l dan satu set primer yang digunakan sebanyak \pm 15 μ l dalam *microtube* 0,2 ml. Sampel dikemas didalam kotak sterofoam yang ditambahkan gel es supaya menjaga suhu tetap rendah pada proses pengiriman. Hasil sekuensing dianalisis menggunakan perangkat lunak BioEdit untuk menganalisis kualitas elektroferogram yang diperoleh.

3.5.6 Analisis Filogenetik

Analisis filogenetik diawali dengan mencari kesamaan sekuen menggunakan BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) di situs web NCBI. Sekuen yang relevan dengan tingkat kemiripan gen HBS1L-MYB dipilih dan didownload dalam format FASTA untuk analisis lebih lanjut. File FASTA diimpor ke dalam *software* MEGA (*Molecular Evolutionary Genetics Analysis*). Penyelarasan sekuen (*multiple sequence alignment*) dalam *software* MEGA dilakukan menggunakan algoritma *ClustalW*.

3.6 Diagram Alir Penelitian



Gambar 4. Diagram Alir Penelitian

V. KESIMPULAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa:

1. Sekuen gen HBS1L-MYB berhasil diisolasi dari genom sampel darah pasien β -thalassemia.
2. Analisis filogenetik terhadap sekuen gen HBS1L-MYB menunjukkan bahwa sekuen sampel berkelompok dalam satu *clade* yang sama dengan sekuen HBS1L-MYB dari populasi lain yang telah terdeposit di *GeneBank*.

5.2 Saran

Perlu melibatkan jumlah sampel yang lebih besar agar variasi genetik yang diperoleh dapat merepresentasikan populasi secara lebih akurat dengan mempertimbangkan analisis *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP) untuk mengevaluasi hubungan antara variasi genetik pada lokus HBS1L-MYB dengan kadar HbF pada individu dengan β -thalassemia.

DAFTAR PUSTAKA

- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Morgan, D., Raff, M., Roberts, K., & Walter, P. (2014). *Molecular Biology of the Cell*. Garland Science, Taylor & Francis Group.
- Ali, S., Mumtaz, S., Shakir, H. A., & Khan, M. (2021). *Current Status of Beta-Thalassemia and Its Treatment*. 307–322.
- Andriyani, Y., Priyambodo, P., Rustiati, E.L., Pratami, G.D., Ashari, M.M., Srihanto, E.A., Pratiwi, D.N., Adelia, E.I., Azzahra, L.S., Lestari, S.W., & Sandra Shifa. 2025. Amplifikasi Gen COI Pada Sampel Lebah Tanpa Sengat di Lampung Tengah: Analisis Secara Kualitatif. *Jurnal Pendidikan Biologi*. 10(2):1009-1014.
- Anggraini, N. A., Syuhada, Purwaningrum, R., & Prasetia, T. (2025). Kesesuaian Hasil Pemeriksaan Elektroforesis Hemoglobin dengan Indeks Mentzer pada Penderita Talasemia di RSUD Dr. H. Abdul Moeloek Bandar Lampung. *Jurnal Ilmu Kedokteran Dan Kesehatan*, 12(9), 2016–2022.
- Anggraini, N. B., & Listyorini, D. (2021). S-D614G Mutation Reveals the Euro-America and East-Asia Origin SARS-CoV-2 Virus Spread in Indonesia. *Jurnal Riset Biologi Dan Aplikasinya*, 3(2), 45–53.
- Anissa, R. K., Lisdiana, L., & Widyayanti, A. T. (2024). Optimasi Metode Nested PCR untuk Deteksi *Vibrio parahaemolyticus* AHPND pada Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Journal UNESSA*, 13(1), 1–13.
- Antoniani, C., Romano, O., & Miccio, A. (2017). Epigenetic Regulation of Hematopoiesis: Biological Insight and Therapeutic Applications. *Stem Cells Translational Medicine*.
- Arianti, Y., & Sianturi, S. (2019). Ekstraksi DNA Total dari Sumber Jaringan Hewan (Ikan Kerapu) Menggunakan Metode Kit for Animal Tissue. *Journal of Science and Application Technology*, 3(1), 40–45.
- Azahra, A. P. A., Listanto, P., Ramadhan, K. N., Indriansyah, T. A. G., Khairunnisa, L. A., & Arini, L. D. D. (2025). Peran Asam Nukleat dalam Proses Sintesis Protein: Analisis Mekanisme DNA, RNA, dan Ribosom dalam Regulasi Genetik. *Student Scientific Creativity Journal*, 3(2), 15–24. Bashir, S., Mahmood, S., Mohsin, S., Tabassum, I., Ghafoor, M., &

- Sajjad, O. (2021). Modulatory Effect of Single Nucleotide Polymorphism in Xmn1, BCL11A and HBS1L-MYB Loci on Foetal Haemoglobin Levels in β -Thalassemia Major and Intermedia Patients. *Journal of Medicine*.
- Buchori, A., Firmansyah, H., Anika, M., Ratnawati, S., Ulfa, T., & Zandrato, Y. (2023). Komparasi Metode Ekstraksi DNA Menggunakan Daun Padi: Review. *Journal STEDCA*, 1(1), 40–50. Cahyani, L., & Sulastri. (2024). Kadar Hemoglobin pada Remaja Putri yang Sedang Menstruasi di Desa Donoyudan Kalijambe Sragen. *Holistik Jurnal Kesehatan*, 18(5), 577–583.
- Chao, J., Tang, F., & Xu, L. (2022). Developments in Algorithms for Sequence Alignment: A Review. *Biomolecules*, 12, 154. <https://doi.org/10.3390/biom12040546>
- Chen, J. M., Zhu, W. J., Liu, J., Wang, G. Z., Chen, X. Q., Tan, Y., Xu, W. W., Qu, L. W., Li, J. Y., Yang, H. J., Huang, L., Cai, N., Wang, W. D., Huang, K., Xu, J. Q., Li, G. H., He, S., Luo, T. Y., Huang, Y., ... Zhou, G. B. (2021). Safety and Efficacy of Thalidomide in Patients With Transfusion-Dependent β -Thalassemia: A Randomized Clinical Trial. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 6(1), 405. <https://doi.org/10.1038/s41392-021-00811-0>
- Demeke, T. (2025). Considerations for the Successful Detection and Quantification of Genetically Modified Events in Grain and Food Samples Using Multiplex Digital PCR. *Foods*, 14, 75. <https://doi.org/10.3390/foods14010075>
- Dewana, I. G. J., Pertiwi, N. P. D., Yulastuti, Yusmalinda, Apriliani, L. P. C., Savitri, N. K. R. S., Rachmawati, R., & Sembiring, A. (2025). Genetic Diversity and Species Identification of Unhatched Sea Turtle Eggs from Southern Bali Hatcheries. *Jurnal Biologi Tropis*, 25(4), 5353–5361.
- Dewi, T. Y., Merdekawati, F., Djuminar, A., & Abror, Y. K. (2024). Optimization of Denaturation Temperature and Time Using Real-Time PCR Method in Hepatitis B Test. *Journal of Vocation Health Studies*, 8, 131–136.
- Faheem, Youmna, Broudi, M., Saddik, E. A., Samia, John, Steffi, Hafez, & Wael. (2024). A Rare Hemoglobinopathy Duo Hb Adana \times Hb SEA in a 1 Year Old Patient: A Case Report and a Brief Literature Review. *Journal of Medicine and Surgery*, 86(6), 132–178.
- Hariri, M. R., Damayanti, I., Irsyam, A. S. D., Anshori, Z. A., Ratnasih, R., & Irwanto. (2024). Rotala rotundifolia (Buch.-Ham. ex Roxb.) Koehne, Rekaman Baru Tumbuhan Asing Akuatik di Jawa. *Jurnal Agrotek Tropika*, 12(4), 949–955.
- Jeradi, N. A., Fernandez, M. J., Khaldi, R. A., Sukumaran, J., & Adekile, A. (2021). Unique Polymorphisms at BCL11A, HBS1L-MYB and HBB Loci Associated with HbF in Kuwaiti Patients with Sick Cell Disease. *Journal of Personalized Medicine*, 11(6), 567. <https://doi.org/10.3390/jpm11060567>

- Liansyah, T. M., & Herdata, H. N. (2018). Aspek Klinis dan Tatalaksana Thalassaemia pada Anak. *Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan*, *1*(1), 63–69.
- Lim, L. N., Teh, L. K., Yu, K. S., Chua, S. M., George, E., Lai, M. I., & Wong, L. (2020). Genetic Variants of HBS1L-MYB with Hb Subtypes Level Among Filipino β^0 -Deletion Carriers Co-Inherited with $\alpha 3.7$ Deletion Thalassaemia. *Meta Gene*, *30*, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.mgene.2020.100769>
- Mazzarella, L., Merlino, A., Balasco, N., Balsamo, A., & Vergara, A. (2018). Crystal Structure of the Ferric Homotetrameric $\beta 4$ Human Hemoglobin. *Biophysical Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.bpc.2018.05.003>
- Mohammad, S. N. N. A., Ibrahimi, S., Rahman, W. S. A. R., Hassan, M. D., Edinur, H. A., Azlan, M., & Zulkifli, Z. (2022). Single Nucleotide Polymorphisms in XMN1-HBG2, HBS1L-MYB, and BCL11A and Their Relation to High Fetal Hemoglobin Levels That Alleviate Anemia. *Diagnostics*, *12*(4), 1–13.
- Mollah, A., Ashan, M. A., & Khatimah, A. H. (2023). Uji Kualitas dan Kuantitas DNA Porang (*Amorphophallus muelleri* Blume) pada Beberapa Kawasan di Sulawesi Selatan. *Jurnal Agrotechno*, *15*(1), 1–7.
- Musallam, K. M., Lombard, L., Kistler, K. D., Arregui, M., Gilgroy, K. S., Chamberlain, C., Zagadailov, E., Ruiz, K., & Taher, A. T. (2023). Epidemiology of Clinically Significant Forms of Alpha- and Beta-Thalassaemia: A Global Map of Evidence and Gaps. *American Journal of Hematology*, *98*, 1436–1452. <https://doi.org/10.1002/ajh.27006>
- Musallam, K. M., Vitrano, A., Meloni, A., Pollina, S. A., Marco, V. D., Ansari, S. H., Filosa, A., Ricchi, P., Ceci, A., Daar, S., Flachaki, E., Singer, S. T., Naserullah, Z. A., Pepe, A., Scondotto, S., Dardanoni, G., Karimi, M., Beshlawy, A. E., Hajjpour, M., ... Maggio, A. (2021). Primary HBB Gene Mutation Severity and Long-Term Outcomes in a Global Cohort of β -Thalassaemia. *British Journal of Haematology*, *196*(2). <https://doi.org/10.1111/bjh.17897>
- Nestor, B. J., Bayer, P. E., Fernandez, C. G. T., Edwards, D., & Finnegan, P. M. (2023). Approaches to Increase the Validity of Gene Family Identification Using Manual Homology Search Tools. *Genetica*, *151*(6), 325–338. <https://doi.org/10.1007/s10709-023-00196-8>
- Oktafia, R. E., & Badruzsaufari. (2021). Analisis Filogenetik *Garcinia* spp. Berdasarkan Sekuens Gen rRNA. *Jurnal Ziraah'ah*, *46*(2), 259–264.
- Organization, W. H. (2021). *Thalassaemia: Global Prevalence and Burden*. World Health Organization.
- Paloma, I. D. A. (2025). Talasemia: Sebuah Tinjauan Pustaka. *Biocity Journal of Pharmacy Bioscience and Clinical Community*, *1*(2), 91–104.
- Piebler, A. P., Truger, M., Kozik, J. K., Weissmann, Schwonzen, M.,

- Meggendorfer, M., Kern, W., Haferlach, T., Hoermann, G., & Haferlach, C. (2024). Classical Meets Malignant Hematology: A Case of Acquired $\epsilon\gamma\delta\beta$ -Thalassemia in Clonal Hematopoiesis. *Haematologica*, *109*(8), 2745–2748. <https://doi.org/10.3324/haematol.2024.285083>
- Praramdana, M. N., Rusydi, M. A., & Rizky, M. (2023). Sebuah Tinjauan Pustaka: Penatalaksanaan Beta-Thalassemia. *Jurnal Medika Hutama*, *4*(2), 3257–3264.
- Pratama, B., & Kurniati, I. (2019). Pendekatan Diagnosis Berbasis Molekuler pada Pasien Thalassemia. *Jurnal Medula*, *9*(2), 399–405.
- Puspitasari, A., Budiarsa, I. M., Ashari, A., Trianto, M., Dhafir, F., & Windarsih, Y. (2025). Analisis Filogenetik Cryptic Species *Apis cerana* Fabricius, 1793 Berdasarkan Gen 16S rRNA. *Jurnal Ilmiah Biologi*, *13*(1), 521–530.
- Putri, A. E., & Purwati, N. H. (2019). Dukungan Keluarga dan Kualitas Hidup Pasien Remaja dengan Thalassemia Beta Mayor. *Indonesian Journal of Nursing Sciences and Practice*, *2*(2), 43–50.
- Rohmah, Z. N., Rodiani, Setiorini, A., & Islamy, N. (2022). Asal Rujukan Pasien Rujukan Obstetri pada RSUD Dr. H. Abdul Moeloek Tahun 2020. *Jurnal Medika Hutama*, *3*(4), 2792–2795.
- Roslim, D. I., Herman, Adiwirman, & Lestari, W. (2023). *Barkoding DNA Jilid 1*. Penerbit KBM Indonesia.
- Rujito, L. (2019). *Talasemia: Genetik Dasar dan Pengelolaan Terkini*. Universitas Jenderal Soedirman.
- Safitri, Y. (2024). Perbandingan Metode Isolasi DNA Konvensional (Fenol-Kloroform) dan Kit Komersil terhadap Kualitas DNA Sampel Kosmetik. *Medical Research and Public Health Information Journal*, *1*(1), 32–40.
- Seriningsih, Y., Ts, N., & Fransiska, D. (2025). Self Efficacy terhadap Psychological Well-Being Orang Tua Anak Thalassemia Mayor di RSUD Al-Ihsan Provinsi Jawa Barat. *Malahayati Nursing Journal*, *7*(3), 1372–1380.
- Setiawan, W. A., Setiawan, A., Salsabilla, N. K., Widyastuti, W., Laila, A., Juliasih, N. L. G. R., Irawan, B., Ahmadi, P., Epriliana, E., Arai, M., & Hendri, J. (2024). Novel *Micrococcus unila* to Produce Glucosamine by Solid-State Fermentation of Shrimp Shell Waste. *Science and Technology Indonesia*, *9*(4), 779–789.
- Setiawan, W. A., Widyastuti, U., & Yuhana, M. (2015). Detection of Luminous *Vibrio harveyi* in Penaeid Shrimp Through Nested PCR Using Haemolysin Gene Primer. *HAYATI Journal of Biosciences*, *22*(2), 60–66.
- Setyawati, R., & Zubaidah, S. (2021). Optimalisasi Konsentrasi Primer dan Suhu Annealing dalam Mendeteksi Gen Leptin pada Sapi Peranakan Ongole (PO) Menggunakan Polymerase Chain Reaction (PCR). *Indonesian Journal of*

Laboratory, 4(1), 36–40.

- Shuhaib, M.B & Hashim, H.O. 2023. Mastering DNA Chromatogram Analysis in Sanger Sequencing for Reliable Clinical Analysis. *Journal Genet Eng Biotechnol.* 21(11):115-207.
- Subari, A., Razak, A., & Sumarmin, R. (2021). Phylogenetic Analysis of *Rasbora* spp. Based on the Mitochondrial DNA COI Gene in Harapan Forest. *Jurnal Biologi Tropis*, 21(1), 89–94.
- Sudrajat, P., Volkandari, S. D., Cahyadi, M., Prasetyo, A., Komalawati, Wibowo, S., & Subiharta. (2021). Pemanfaatan Informasi Genom untuk Eksplorasi Struktur Genetik dan Asosiasinya dengan Performan Ternak di Indonesia. *Jurnal UNS*, 19(1), 1–11.
- Suryoadji, K. A., & Alfian, I. M. (2021). Patofisiologi Gejala Penyakit Thalassemia Beta: A Narrative Review. *Jurnal Khazanah*, 13(2), 58–60.
- Syafira, M., Sribudiani, Y., & Maskoen, A. M. (2024). Systematic Review: Pemodelan Genetik β -Thalassemia. *Journal of Medicine and Health (JMH)*, 6(1), 91–102.
- Tripathi, P., Kumar, S., & Singh, R. (2023). Impact of Genetic Polymorphisms in Modifier Genes in Determining Fetal Hemoglobin Levels in Beta-Thalassemia. *Hemoglobinopathies Research Journal*, 13(1), 9–18.
- Viyati, K., Prayuni, K., Andayani, S. H., Zulhamidah, Y., Sofwan, A., Muflihah, L., Yunus, R., Junaefi, & Judasah, I. (2023). Deteksi Variasi Gen ADAM33 dengan Metode Sekuensing Sanger. *Jurnal Saintekes*, 10(2), 117–125.
- Wardi, E. S., Verawati, Juita, A. I., & Nova, B. (2023). Desain Primer dan Deteksi Gen CHS (Chalcone Synthase) pada Tanaman Gambir (*Uncaria gambir* (Hunter) Roxb.) Tipe Udang. *Jurnal Farmasi, Kesehatan, Dan Sains (FASKES)*, 1(3), 150–163.
- Wei, Z. H., Xie, L., Wang, Y. J., Zhuang, J. X., Niu, J. J., & Liu, L. L. (2023). Red Blood Lysis Pretreatment Can Significantly Improve the Yield of *Treponema pallidum* DNA from Blood. *Microbiology Spectrum*, 11(3). <https://doi.org/10.1128/spectrum.05198-22>
- Widodo, W. T. (2025). Komponen, Tahapan, dan Variasi Polymerase Chain Reaction: Artikel Review. *Jurnal Kesehatan Tambusai*, 6(1), 3350–3357.
- Widyastiti, S. N., Nainggolan, I. M., Limijadi, E. K. S., Hendrianingtyas, M., DRetnoningrum, D., Ariosta, Nancy, Y. M., Dewi, M., Sutamti, Ratnaningsih, T., & Sukorini, U. (2023). Genetic Heterogeneity of Thalassemia Major Patients in Rembang Regency, Central Java, Indonesia. *Bali Medical Journal*, 12(2), 1633–1639.
- Youk, S., Kang, M., Ahn, B., Koo, Y., & Park, C. (2023). Genetic Diversity and Sequence Conservation of Peptide-Binding Regions of MHC Class I Genes

in Pig, Cattle, Chimpanzee, and Human. *Genes*, 15(1).
<https://doi.org/10.3390/genes15010007>

Yudianto, A. (2020). *Pemeriksaan Forensik DNA Tulang dan Gigi*. Sintesa Book.

Yuenleni. (2019). Langkah-Langkah Optimasi PCR. *Indonesian Journal of Laboratory*, 1(3).