

ARTIKEL PENELITIAN

Karakterisasi DNA Gen Beta Globin Berdasarkan Konsentrasi dan Kemurniannya Pada Talasemia β Minor

*Arina Novilla¹⁾, Sitti Romlah¹⁾, Erick Khristian¹⁾, Jesica Putri Puspita Sari¹⁾

¹⁾Prodi Teknologi Laboratorium Medis (D3), Fakultas Ilmu dan Teknologi Kesehatan, Universitas Jenderal Achmad Yani Cimahi, Jawa Barat, Indonesia

*Corresponding Author: Arina Novilla, arina.novilla@lecture.unjani.ac.id, Cimahi, Indonesia

Abstrak

Talasemia β minor merupakan kondisi heterozigot yang disebabkan oleh mutasi pada gen β -globin, yang mengakibatkan penurunan sintesis rantai β -globin tanpa gejala klinis berat. Identifikasi mutasi pada gen β -globin melalui analisis DNA menjadi pendekatan utama dalam penegakan diagnosis talasemia minor secara molekuler. Keberhasilan analisis tersebut sangat dipengaruhi oleh konsentrasi dan kemurnian DNA, karena DNA dengan kualitas rendah dapat menghambat amplifikasi PCR dan menurunkan akurasi deteksi mutasi. Oleh karena itu, karakterisasi DNA gen β yang disertai evaluasi konsentrasi dan kemurnian DNA karena kualitas DNA langsung mempengaruhi keberhasilan analisis molekuler seperti PCR dan sekuensing DNA. Metode penelitian ini adalah eksperimen, Isolasi DNA menggunakan kit Geneaid gSYNC™ DNA Extraction. Hasil dari proses isolasi DNA kemudian diperiksa secara kualitatif dengan menggunakan elektroforesis konsentrasi 1% pada gel agarosa. Berdasarkan hasil dapat disimpulkan bahwa nilai kemurnian pada rentang 1,2-1,8, sebanyak 5 sampel kemurniannya kurang baik dan 1 sampel kemurniannya baik, karena nilai kemurnian DNA yang baik adalah 1,8-2,0. Hasil konsentrasi DNA berada pada rentang 18,6-41,5 ng/ul, sebanyak 1 sampel konsentrasi DNA belum memadai dan 5 sampel konsentrasi DNA memadai karena konsentrasi DNA yang memadai adalah pada rentang 20–100 ng/μL.

Kata Kunci: Gen beta globin, Konsentrasi, Kemurnian, Talasemia β minor

Abstract

Thalassemia minor is a heterozygous condition caused by a mutation in the β -globin gene, which results in a decrease in β -globin chain synthesis without severe clinical symptoms. Identification of mutations in the β -globin gene through DNA analysis is the main approach in the enforcement of the molecular diagnosis of thalassemia minor. The success of such analyses is greatly influenced by the concentration and purity of the DNA, as low-quality DNA can inhibit PCR amplification and decrease the accuracy of mutation detection. Therefore, the DNA characterization of β genes accompanied by evaluation of DNA concentration and purity due to DNA quality directly affects the success of molecular analyses such as PCR and DNA sequencing. The method of this study is an experiment, DNA Isolation using the Geneaid gSYNCTM DNA Extraction kit. The results of the DNA isolation process were then qualitatively examined using electrophoresis of a concentration of 1% on agarose gel. Based on the results, it can be concluded that the purity value in the range of 1.2-1.8, as many as 5 samples of purity is not good and 1 sample of purity is good, because the purity value of good DNA is 1.8-2.0. The results of DNA concentration were in the range of 18.6-41.5 ng/ul, as many as 1 sample of inadequate DNA concentration and 5 samples of adequate DNA concentration because the adequate DNA concentration was in the range of 20–100 ng/μL.

Keywords: Beta globin gene, Concentration, Purity, Thalassemia β minor

PENDAHULUAN

Indonesia terletak di sepanjang '*Thalassemia Belt*' dan *hotspot* hemoglobinopati. Sekitar 3,0-10,0% populasi menderita β -thalassemia (β -thal) dan 2,6-11,0% populasi menderita α -thalassemia (α -thal). Diperkirakan sekitar 2500 bayi lahir dengan β -thal mayor (β -TM) setiap tahun. Saat ini, pengobatan β -TM di Indonesia termasuk transfusi darah dan terapi khelasi zat besi (Wahidiyat *et al.*, 2022).

Talasemia merupakan kelainan genetik darah yang disebabkan oleh mutasi pada gen beta globin yang mengakibatkan gangguan produksi rantai beta globin dalam hemoglobin. Talasemia minor adalah bentuk heterozigot talasemia beta yang biasanya menunjukkan gejala klinis ringan tetapi perubahan genetik pada DNA gen beta globin tetap dapat dideteksi (Rujito, 2021). Kasus yang membedakan antara α -Thalassemia dan β -Thalassemia terletak pada variasi mutasi di gen globinnya. Penyebab β -Thalassemia adalah mutasi homozygous atau *double heterozygous (compounding heterozygous)* pada gen β -globin (HBB). Gen HBB mengode rantai β -globin penyusun hemoglobin dan terletak pada kromosom 11 (11p15.5). Mutasi pada gen HBB berperan sebagai penyebab utama β -talasemia, termasuk talasemia minor (*carrier*) (Origa, 2017). Penyakit ini adalah salah satu kelainan genetik yang paling umum di antara manusia, dengan hampir 7% dari populasi manusia berperan sebagai pembawa sifat (*carrier*), yang berarti mereka memiliki mutasi heterozygous pada gen β -globin. Sementara itu, α -Thalassemia muncul karena mutasi homozygous atau *double heterozygous* pada gen α -globin (HBA) (Syafira *et al.*, 2024).

Identifikasi mutasi pada gen β -globin melalui analisis DNA menjadi pendekatan utama dalam penegakan diagnosis talasemia minor secara molekuler. Keberhasilan analisis tersebut sangat dipengaruhi oleh konsentrasi dan kemurnian DNA, karena DNA dengan kualitas rendah dapat menghambat amplifikasi PCR dan menurunkan akurasi deteksi mutase. Oleh karena itu, karakterisasi DNA gen β yang disertai evaluasi konsentrasi dan kemurnian DNA karena kualitas DNA langsung mempengaruhi keberhasilan analisis molekuler seperti PCR dan sekuensing DNA. Konsentrasi DNA yang optimal dan kemurnian yang tinggi mampu meminimalkan kesalahan deteksi mutasi yang menjadi penanda talasemia minor, sehingga hasil analisis menjadi lebih akurat (Origa, 2017). Penelitian serupa yang dilakukan Armilla (2017), melakukan pengukuran kemurnian DNA menggunakan spektrofotometri (NanoDrop) merupakan *Quality Control* sebelum tahap molekuler lanjutan dalam penapisan mutasi gen β -globin.

Penelitian pada populasi pembawa sifat talasemia beta di Indonesia menunjukkan adanya berbagai jenis mutasi pada gen beta globin yang beragam antar etnik. Hal ini menegaskan perlunya metode karakterisasi DNA yang sensitif dan spesifik, termasuk pengukuran konsentrasi dan

kemurnian DNA, agar mampu mendeteksi mutasi secara tepat dan mendukung diagnosis yang efektif. Dengan tingginya prevalensi pembawa sifat talasemia beta di Indonesia, penelitian ini diharapkan memberikan kontribusi penting dalam skrining molekuler, diagnosis dini, dan konseling genetik bagi pencegahan dan pengelolaan talasemia minor dalam konteks lokal (Rujito L., 2019).

Secara epidemiologis, prevalensi pembawa gen talasemia di Indonesia cukup tinggi, sehingga deteksi dini dan karakterisasi mutasi gen beta globin menjadi kebutuhan penting dalam langkah pencegahan dan manajemen penyakit. Pemahaman yang mendalam tentang kualitas DNA yang digunakan dalam skrining dapat membantu meningkatkan akurasi diagnosis talasemia minor serta mendukung program pencegahan terpadu di tingkat nasional.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen kuasi. Tempat penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler Fakultas Ilmu dan Teknologi Kesehatan Universitas Jenderal Achmad Yani Cimahi. Spesimen berasal dari mahasiswa TLM yang mempunyai kriteria inklusinya adalah yang mempunyai nilai Hb di bawah normal. Selanjutnya dilakukan pemeriksaan darah lengkap dan didapatkan sebanyak 26 sampel yang mempunyai Indeks Eritrosit (MCV dan MCH) di bawah normal, kemudian dilanjutkan dengan melakukan isolasi DNA. Penelitian ini melakukan Uji Etik yang telah disetujui pelaksanaannya berdasarkan Persetujuan Etik No. 028/KEPK/FITKes-Unjani/I/2025. Metode kit Geneaid gSYNC™ DNA Extraction digunakan untuk melakukan hasil isolasi DNA. DNA genom hasil isolasi dianalisis secara kuantitatif dengan menggunakan Nanodrop 2000 sehingga diketahui konsentrasi dan kemurnian DNA. Konsentrasi DNA dapat diketahui dari nanogram/ μ L dan kemurnian DNA dapat diketahui dari nilai 260/280.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Talasemia minor merupakan kondisi heterozigot yang disebabkan oleh mutasi pada gen β -globin (HBB), yang umumnya tidak menimbulkan gejala klinis berat namun memiliki peran penting dalam transmisi genetik dan program skrining. Oleh karena itu, analisis molekuler terhadap gen β -globin menjadi metode baku untuk konfirmasi diagnosis talasemia minor. Keberhasilan analisis molekuler tersebut sangat bergantung pada kualitas DNA, khususnya dari aspek konsentrasi dan kemurniannya, karena mutasi pada talasemia minor sering berupa mutasi titik yang memerlukan ketelitian tinggi dalam deteksi genetik (Origa, 2017; Cao & Galanello, 2018).

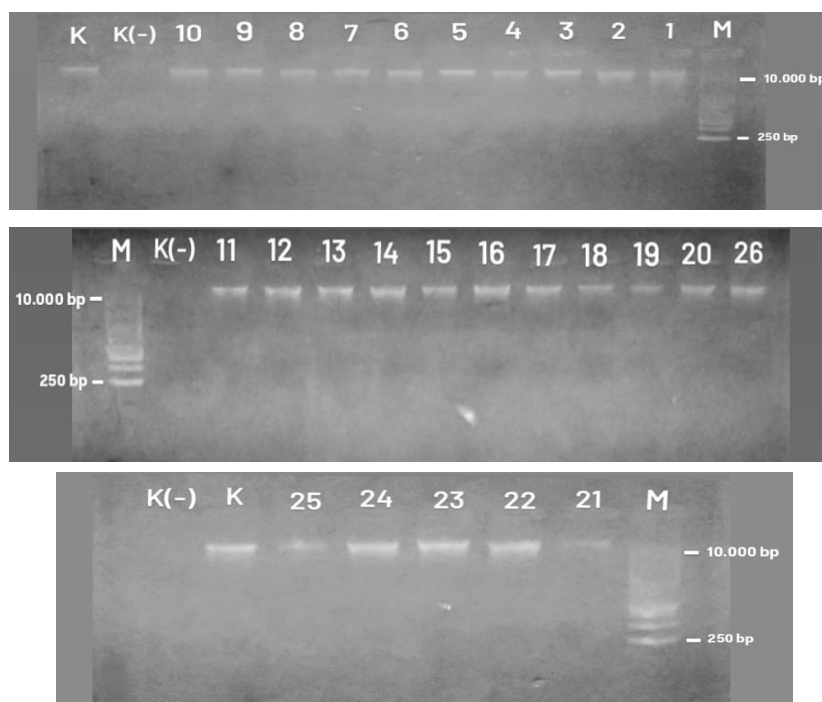
Berdasarkan hasil pemeriksaan elektroforesis hemoglobin yang dilakukan di laboratorium

Pramita Bandung disimpulkan sebanyak 6 sampel adalah Talasemia beta minor (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil Pemeriksaan Elektroforesis Hb

Kode Sampel	Elektroforesis Hb
2	Talasemia β minor
3	Talasemia β minor
5	Talasemia β minor
19	Talasemia β minor
22	Talasemia β minor
25	Talasemia β minor

Selanjutnya dilakukan isolasi DNA menggunakan Kit gSYNC™ DNA Extraction yang mencakup proses lisis sel, pengikatan DNA pada kolom silica, pencucian, serta elusi DNA. Hasil dari isolasi DNA tersebut dilakukan uji kualitatif menggunakan elektroforesis gel agarosa 1% yang kemudian hasil dilihat dengan alat UV transluminator, hasilnya pada gambar 1 seluruh sampel didapatkan pita yang menandakan isolasi berhasil.



Gambar 1. Elektroforegram hasil isolasi DNA

Pada hasil elektroferogram tersebut didapatkan bahwa hasil isolasi DNA berhasil karena semua sampel menunjukkan pita DNA yang terlihat jelas dengan ukuran >10.000 bp. Untuk memastikan kemurnian DNA dari hasil isolasi, uji kuantitatif dilakukan menggunakan Nanodrop 2000 sebagai tambahan dari uji kualitatif. Selanjutnya keenam sampel tersebut dilakukan penentuan

konsentrasi dan kemurnian DNA menggunakan Nanodrop yang diukur berdasarkan perbandingan absorbansi pada panjang gelombang 260 nm dan 280 nm. Hasilnya ditunjukkan dalam Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Pengukuran Konsentrasi dan Kemurnian DNA

Kode Sampel	λ 260	λ 280	Kemurnian DNA (λ 260 / λ 280)	Konsentrasi DNA (x50 ng/ul)
2	0,831	0,474	1,8	41,5
3	0,651	0,400	1,6	32,6
5	0,494	0,330	1,5	24,7
19	0,372	0,268	1,4	18,6
22	0,751	0,607	1,2	37,5
25	0,469	0,295	1,6	23,5

Hasil dari isolasi DNA sampel didapatkan nilai kemurnian berkisar antara 1,2-1,8, hasil tersebut sebanyak 5 sampel kemurniannya kurang baik dan 1 sampel kemurnian DNA yang baik. Kemurnian DNA yang baik berada pada rentang 1,8-2,0 (Pandu & Miftahul, 2021). Konsentrasi DNA diperoleh berada pada rentang 18,6-41,5 ng/ μ L, dan masuk dalam rentang memadai yaitu 20–100 ng/ μ L (Origa, 2017), hanya satu sampel yang belum memadai yaitu 18,6 ng/ μ L. Nilai kemurnian <1,8 disebabkan oleh adanya kontaminasi protein dan hasil nilai kemurnian >2,0 disebabkan oleh adanya kontaminasi RNA dalam sampel. (Sofia et al., 2023). Hasil nilai kemurnian pada rasio A260/A280 dapat meningkat lebih dari 2,0 disebabkan karena pada saat proses isolasi terdapat RNA yang tidak terpisahkan dari DNA, sehingga sampel DNA masih mengandung kontaminasi RNA (Wardana & Mushlih, 2021).

Kualitas DNA, yang meliputi konsentrasi dan kemurnian, sangat mempengaruhi keberhasilan teknik molekuler seperti PCR, elektroforesis, dan sekuensing DNA dalam mendeteksi mutasi pada gen beta globin. DNA yang memiliki konsentrasi optimal dan kemurnian tinggi memungkinkan deteksi mutasi secara akurat dan mengurangi risiko hasil yang tidak valid atau false negatif. Teknik PCR-SSCP (*Single-Strand Conformation Polymorphism*) dan elektroforesis telah banyak digunakan untuk karakterisasi mutasi pada gen beta globin dengan hasil yang valid apabila DNA yang dianalisis memiliki kualitas baik (Huda et al., 2019).

Karakterisasi DNA gen beta globin, terutama berdasarkan konsentrasi dan kemurniannya, sangat penting dalam proses diagnosis dan skrining pembawa sifat talasemia minor (Rujito, 2021). Hasil karakterisasi menunjukkan bahwa konsentrasi DNA gen β -globin yang diperoleh berada pada rentang yang memadai untuk analisis molekuler. Konsentrasi DNA yang optimal sangat penting karena DNA dengan jumlah terlalu rendah dapat menyebabkan kegagalan amplifikasi PCR, sedangkan konsentrasi yang terlalu tinggi dapat mengganggu reaksi enzimatik akibat peningkatan

viskositas atau kontaminan ikut terbawa. Green dan Sambrook (2019) menegaskan bahwa konsentrasi DNA yang sesuai merupakan prasyarat utama untuk keberhasilan PCR dan sekuensing gen target, termasuk

Dalam talasemia minor, mutasi gen β -globin sering berupa mutasi titik heterozigot, sehingga DNA dengan konsentrasi sedang dan stabil lebih disarankan dibanding konsentrasi sangat tinggi. DNA dengan konsentrasi dalam rentang 20–100 ng/ μ L dan kemurnian baik ($A_{260}/A_{280} \approx 1,8$) sangat mendukung ketepatan deteksi mutasi gen HBB (Origa, 2017). Selain konsentrasi, kemurnian DNA yang diukur melalui rasio absorbansi A_{260}/A_{280} memberikan gambaran adanya kontaminasi protein atau senyawa organik lainnya. Nilai rasio A_{260}/A_{280} mendekati 1,8 menunjukkan DNA dengan tingkat kemurnian yang baik dan layak digunakan untuk analisis molekuler lanjutan. DNA dengan kemurnian rendah dapat menghambat kerja DNA polimerase, sehingga menurunkan sensitivitas dan spesifisitas deteksi mutasi gen β -globin (Thermo Fisher Scientific, 2020; Green & Sambrook, 2019).

Dalam Talasemia minor, evaluasi kemurnian DNA menjadi aspek yang krusial karena mutasi gen β -globin pada kondisi ini bersifat heterozigot dan sering kali sulit dibedakan dari alel normal tanpa kualitas DNA yang optimal. Origa (2017) menyatakan bahwa kesalahan pada tahap pra-analitik, termasuk kualitas DNA yang buruk, dapat menyebabkan hasil negatif palsu pada pemeriksaan molekuler talasemia minor. Oleh karena itu, karakterisasi kemurnian DNA tidak hanya berfungsi sebagai kontrol kualitas, tetapi juga menentukan validitas hasil analisis genetik. Karakterisasi DNA gen β -globin berdasarkan konsentrasi dan kemurniannya memberikan dasar ilmiah dalam menentukan kelayakan sampel untuk analisis molekuler lanjutan, seperti PCR spesifik alel atau sekuensing. Beberapa penelitian genetik menyebutkan bahwa keberhasilan amplifikasi dan kualitas pembacaan sekuens sangat dipengaruhi oleh kualitas DNA awal yang digunakan (Butler, 2015; Green & Sambrook, 2019). Dengan demikian, pengukuran konsentrasi dan kemurnian DNA memiliki implikasi langsung terhadap reliabilitas hasil pemeriksaan gen β -globin. Hasil ini sejalan dengan referensi yang menekankan pentingnya kualitas DNA dalam studi genetik penyakit hereditas (Cao & Galanello, 2010 ; Origa, 2017).

SIMPULAN

Berdasarkan hasil dapat disimpulkan bahwa dari isolasi DNA pada enam sampel yang didiagnosis talasemia beta minor, didapatkan bahwa nilai kemurnian pada rentang 1,2-1,8, sebanyak 5 sampel kemurniannya kurang baik dan 1 sampel kemurniannya baik, karena nilai kemurnian DNA yang baik adalah 1,8-2,0. Hasil konsentrasi DNA berada pada rentang 18,6-41,5 ng/ μ L, sebanyak 1 sampel konsentrasi DNA belum memadai dan 5 sampel konsentrasi DNA memadai karena

konsentrasi DNA yang memadai adalah pada rentang 20–100 ng/μL.

REFERENSI

- Armilla, R. (2017). Mutasi Gen Beta Globin pada Siswi SMAN 1 Sukaraja, Sukabumi. *Skripsi, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah*, 1–103.
- Butler, J. M. (2015). *Advanced Topics in Forensic DNA Typing: Methodology*. Academic Press.
- Cao, A., & Galanello, R. (2010). Beta-thalassemia. *Genetics in Medicine*, 12(2), 61–76. <https://doi.org/10.1097/GIM.0b013e3181cd68ed>
- Green, M. R., & Sambrook, J. (2019). Isolation and quantification of DNA. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2019(6), pdb.top093336.
- Huda, C., Indrayati, A., & Elfahmi, E. (2019). Deteksi Molekuler Ekson 3 Gen Beta Globin pada Pasien Beta Talasemia Mayor di RSUD DR. Soeroto Ngawi menggunakan Metode Polymerase Chain Reaction- Single Strand Conformation Polimorfism. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 16(1), 24–33. <https://doi.org/10.31001/jfi.v16i1.484>
- Origa, R. (2017). β -Thalassemia. 19(6), 609–619. <https://doi.org/10.1038/gim.2016.173>
- Pandu, D., & Miftahul, M. (2021). Differences in DNA Purity Test Using UV-Vis Spectrophotometer and Nanodrop Spectrophotometer in Type 2 Diabetes Mellitus Patients. 15, 1–10. <https://doi.org/10.21070/ijins.v15i.553>
- Rujito L. (2019). *Buku Referensi Talasemia : Genetik Dasar dan Pengelolaan Terkini*. 1st ed. Purwokerto: Universitas Jenderal Soedirman (Issue January).
- Rujito, L. (2021). Talasemia Genetik Dasar dan Pengelolaan Terkini. In *Nuevos sistemas de comunicación e información* (Issue January).
- Sofia, D. U., Sri, U., & Alfí, S. (2023). Analisis DNA Hasil Isolasi Pada Produk Pangan Olahan Ikan (Surimi Ikan) Menggunakan Nano Photometer Analysis of Isolated DNA in Processed Fish Food Products (Fish Surimi) Using a Nano Photometer. 7(1), 9–13. <https://doi.org/10.30595/jrst.v7i1.15180>
- Syafira, M., Sribudiani, Y., & Maskoen, A. M. (2024). Systematic Review: Pemodifikasi Genetik B-Thalassemia. *Journal of Medicine and Health*, 6(1), 91–102. <https://doi.org/10.28932/jmh.v6i1.4788>
- Thermo Fisher Scientific. (2020). *NanoDrop spectrophotometers: Nucleic acid purity ratios explained*.
- Wahidiyat, P. A., Sari, T. T., Rahmartani, L. D., Iskandar, S. D., Pratanata, A. M., Yapiy, I., Setianingsih, I., Atmakusuma, T. D., & Lubis, A. M. (2022). Talasemia in Indonesia. *Hemoglobin*, 46(1), 39–44. <https://doi.org/10.1080/03630269.2021.2023565>
- 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.