Borneo Journal Of Medical Laboratory Technology
BJMLT
http://journal.umpalangkaraya.ac.id/index.php/bjmlt

# Isolasi DNA Gen HBA Pada Pasien Pra-Transfusi Dengan Kontrol Gen *Housekeeping GAPDH* Di Rumah Sakit Santa Elisabeth Medan 2026

## *Isolation of HBA Gene DNA in Pre-Transfusion Patients With GAPDH Housekeeping Gene Control at Santa Elisabeth Hospital Medan 2026*

**Marcelina Hebin Bina Zebua**[1]
**Paska Ramawati Situmorang**[2]
**Rica Vera Br. Tarigan**[3]
**Maulana Baihakhi**[4]

[1]Prodi D4 Teknologi Laboratorium Medik, Sekolah Tiggi Ilmu Kesehatan Santa Elisabeth Medan

email: hebinzebua@gmail.com

**Abstrak**

Identifikasi profil genetik pra-transfusi penting untuk mencegah reaksi imunologis akibat variasi globin. Isolasi DNA gen HBA merupakan tahap awal deteksi variasi genetik yang kualitasnya divalidasi menggunakan gen penanda internal *GAPDH* sebagai kontrol positif. Penelitian deskriptif laboratorium ini bertujuan mengisolasi DNA gen HBA dan memvalidasi kualitasnya dengan kontrol gen *GAPDH* pada pasien pra-transfusi di Rumah Sakit Santa Elisabeth Medan tahun 2026. Sebanyak 20 sampel darah diambil dengan teknik total sampling. Karakteristik Hb responden terbagi seimbang: kelompok Hb 6,0–7,9 g/dL sebanyak 10 orang (50%) dan kelompok Hb 8,0–8,8 g/dL sebanyak 10 orang (50%). Seluruh sampel diekstraksi menggunakan kit komersial, diuji dengan elektroforesis gel agarosa, dan dikonfirmasi melalui *PCR*. Hasil elektroforesis menunjukkan gen target *GAPDH* berhasil teramplifikasi pada ukuran 240 bp (sampel nomor 1, 5, 12, 17, 19, dan 20). Produk amplifikasi gen HBA juga terkonfirmasi spesifik pada ukuran 171 bp (sampel nomor 1, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 13, 14, 16, dan 20). Keberadaan pita DNA pada ukuran target menunjukkan bahwa DNA genom hasil isolasi memiliki kualitas yang memadai untuk proses amplifikasi molekuler. Tingkat keberhasilan deteksi gen HBA mencapai 65% (13/20 sampel), sedangkan gen GAPDH terdeteksi pada 30% (6/20 sampel). Temuan ini menunjukkan bahwa metode isolasi DNA yang digunakan mampu menghasilkan DNA yang dapat diamplifikasi dan divisualisasikan secara spesifik melalui *PCR* serta elektroforesis gel agarosa. Penelitian ini menyimpulkan bahwa isolasi DNA gen HBA pada pasien pra-transfusi berhasil dilakukan dan menghasilkan amplikon spesifik berukuran 171 bp, dengan validasi kualitas molekuler melalui amplifikasi gen *housekeeping GAPDH* berukuran 240 bp.

**Kata Kunci:**
Isolasi DNA, Gen HBA,
Gen *GAPDH*, Pasien Pra-Transfusi

**Keywords:**
*DNA Isolation,*
*HBA Gene, GAPDH Gene,*
*Pre-Transfusion Patients*

***Abstract***

*Identification of the pre-transfusion genetic profile is important to prevent immunological reactions due to globin variations. DNA isolation of the HBA gene is the initial stage of genetic variation detection whose quality is validated using the internal marker gene GAPDH as a positive control. This descriptive laboratory study aims to isolate HBA gene DNA and validate its quality with GAPDH gene control in pre-transfusion patients at Santa Elisabeth Hospital Medan in 2026. A total of 20 blood samples were taken using a total sampling technique. The Hb characteristics of the respondents were evenly divided: the Hb 6.0–7.9 g/dL group was 10 people (50%) and the Hb 8.0–8.8 g/dL group was 10 people (50%). All samples were extracted using a commercial kit, tested by agarose gel electrophoresis, and confirmed via PCR. Duplo electrophoresis results showed that the GAPDH target gene was successfully amplified at 240 bp (sample numbers 1, 5, 12, 17, 19, and 20). The HBA gene amplification product was also confirmed to be specific at 171 bp (sample numbers 1, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 13, 14, 16, and 20). The presence of DNA bands at the target size indicates that the isolated genomic DNA has adequate quality for the molecular amplification process. The success rate of HBA gene detection reached 65% (13/20 samples), while the GAPDH gene was detected in 30% (6/20 samples). These findings indicate that the DNA isolation method used is capable of producing DNA that can be specifically amplified and visualized through PCR and agarose gel electrophoresis. This study concluded that the isolation of HBA gene DNA in pre-transfusion patients was successful and produced a specific amplicon measuring 171 bp, with molecular quality validation through amplification of the 240 bp housekeeping gene GAPDH.*

## PENDAHULUAN

Pesatnya inovasi di sektor kesehatan menuntut peningkatan standar akurasi pada proses diagnostik (Arishi *et al*., 2025). Transfusi darah menjadi tindakan medis yang sangat krusial bila

terjadi perdarahan khususnya pada keadaan kelainan genetik. Berdasarkan situasi yang bersifat darurat dan membahayakan nyawa, transfusi merupakan penanganan yang wajib diberikan kepada pasien dengan indikasi di atas (Yadav *et al*., 2024; Paloma, 2023).

Namun, terdapat tantangan teknis dalam penegakan diagnosis genetik pasca-transfusi tersebut dikarenakan menyebabkan kombinasi antara materi genetik donor dengan pasien. Jejak DNA donor pasca transfusi berpeluang menimbulkan bias hasil pemeriksaan genetik pada pasien dan fragmen DNA donor dapat bertahan dalam sirkulasi pasien pasca transfusi dan berperan dalam mekanisme *transfusion-associated microchimerism*, yakni keberadaan genetik asing dalam tubuh pasien (Wahman *et al*., 2025). Sehubungan dengan hal tersebut, identifikasi gen HBA pra-transfusi menjadi prosedur yang paling representatif sebelum penggabungan materi genetik donor ke sistem sirkulasi darah pasien.

Secara genetik, gen HBA menyandikan rantai α-globin yang berkontribusi dalam sintesis hemoglobin dewasa. Variasi genetik pada gen ini dapat menyebabkan hemoglobinopati seperti α-thalassemia yang mengharuskan prosedur interpretasi molekuler untuk diagnosis akurat. Berdasarkan data, WHO (2021) diketahui prevalensi pembawa varian gen hemoglobin tinggi di Mediterania Timur, Asia Tenggara, Afrika, dan Pasifik Barat, berada pada tingkat minimal di Amerika dan Eropa, gangguan ini ditemukan di 71% negara yang meliputi 89% kelahiran global dan erpengaruh signifikan terhadap kebutuhan pelayanan kesehatan.

Indonesia dengan prevalensi 3–20% untuk pembawa α-thalassemia, 3% untuk pembawa β-thalassemia (*World Health Organization (WHO),* 2021). Berbagai penelitian menunjukkan kompleksitas variasi genetik pada gen HBA. Menurut temuan yang dilaksanakan oleh Matsagos *et al*., (2022) menemukan terjadi mikrokimerisme pada 81,2% pasien yang menjalani transfusi dan bertahan dalam jangka panjang pada 68,7% kasus, yang menunjukkan bahwa materi genetik dari donor dapat tetap berada dalam sirkulasi darah. Penelitian lainnya juga dilakukan oleh Basu *et al*., (2025) sebanyak empat puluh pasien memiliki mutasi delesi 3,7 kb atau 4,2 kb. Pada gen HBA ditemukan pada 15,38% pasien anemia mikrositik di Benggala Barat, menjadikan mutasi ini sebagai penyebab umum anemia mikrositik di daerah tersebut. Lebih lanjut, kompleksitas variasi genetik ini juga ditunjukkan oleh Curcio *et al*., (2023) melalui kasus eritrositosis akibat mutasi ganda pada gen HBA1 dan HBA2, di mana metode sekuensing gen berhasil mengidentifikasi varian hemoglobin abnormal yang tidak terdeteksi secara visual pada pemeriksaan rutin.

Tidak hanya berdampak pada profil darah, variasi jumlah salinan gen HBA juga memiliki implikasi sistemik yang luas. Penelitian Ruhl *et al*., (2022) terhadap 9.908 peserta mengungkapkan bahwa setiap peningkatan satu salinan gen HBA berkaitan dengan kenaikan prevalensi penyakit ginjal kronis (CKD) sebesar 14% dan risiko penyakit ginjal stadium akhir (ESKD) sebesar 32%. Dengan demikian, integrasi data molekuler gen HBA menjadi kunci dalam memprediksi efikasi transfusi, mencegah reaksi hemolitik, serta memantau risiko komplikasi jangka panjang bagi pasien. Keakuratan analisis gen HBA sangat bergantung pada kualitas isolasi DNA sebagai tahap awal pemeriksaan molekuler. Kuantitas dan kualitas DNA yang diisolasi selanjutnya dapat mempengaruhi keandalan dan reproduksibilitas data eksperimental, terutama yang melibatkan analisis lebih lanjut seperti reaksi berantai polimerase (*PCR*) (Tzyy *et al*., 2021). Validitas hasil dapat dipastikan dengan menggunakan gen *housekeeping* seperti *GAPDH* (*Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase*). Parameter ini bertindak

sebagai indikator validasi untuk memastikan integritas proses isolasi DNA dan sampel yang digunakan memiliki kuantitas serta kualitas yang memadai sebelum dilakukan analisis lebih lanjut pada gen target.

Fokus pada pasien pra-transfusi ini bertujuan untuk mendapatkan profil murni gen HBA pasien sebelum terjadi kimerisme atau interferensi dari DNA donor, sehingga hasil isolasi ini dapat menjadi data dasar yang akurat dalam memantau risiko reaksi transfusi hemolitik.

## METODE PENELITIAN

Penelitian Penelitian ini bertujuan untuk melakukan Isolasi DNA Gen HBA pada Pasien Pra-Transfusi dengan Kontrol gen housekeeping GAPDH. Rancangan penelitian yang digunakan adalah studi cross-sectional deskriptif kualitatif. Populasi penelitian meliputi pasien pra-transfusi di Rumah Sakit Santa Elisabeth Medan yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi, dengan jumlah responden sebanyak 20 orang pasien yang dipilih melalui teknik total sampling. Pemeriksaan dan visualisasi gen HBA dan GAPDH dilakukan dengan metode amplifikasi PCR dan Elektroforesis Gel Agarose yang bekerja menggunakan prinsip penggandaan sekuens DNA target secara enzimatik dan pemisahan fragmen berdasarkan ukuran molekul dalam medan listrik, yaitu metode yang secara spesifik digunakan untuk mengonfirmasi keberadaan pita DNA target (Tzyy et al., 2021).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### HASIL

Penelitian dilaksanakan melalui tahapan pengambilan sampel darah vena pada tabung EDTA yang disentrifugasi untuk memisahkan komponen darah hingga menghasilkan lapisan buffy coat. Lapisan ini dipindahkan ke dalam microcentrifuge tube 1,5 ml, ditambahkan aquades, divortex hingga

homogen, lalu disimpan dalam freezer selama 5 menit. Campuran kemudian diputar menggunakan microcentrifuge pada 13.000 rpm selama 3 menit, di mana tahapan purifikasi menggunakan aquades

serta pembekuan ini dilakukan secara berulang sampai sampel mencapai kondisi jernih. Pelet yang tersisa ditambahkan reagen Tripure, divortex hingga homogen, diinkubasi pada suhu ruang, lalu ditambahkan etanol absolut dingin dan diinkubasi kembali. Setelah sentrifugasi, supernatan dibuang dan etanol 96% dingin ditambahkan ke dalam tabung berisi pelet untuk kemudian dikeringkan hingga DNA terlarut sempurna menggunakan ddH2O.Tahap PCR mix dilakukan dengan mengencerkan primer dan master mix menggunakan 290 µl ddH2O, lalu sebanyak 9 µl campuran dimasukkan ke dalam tabung dan ditambahkan 1 µl DNA template. Pelaksanaan PCR terdiri atas 32 siklus yang meliputi tahap pra-denaturasi 95°C selama 3 menit, dilanjutkan dengan denaturasi pada 98°C selama 20 detik, annealing antara 60–70°C selama 13 detik, serta elongasi pada 72°C selama 1 menit. Setelah elongasi akhir selesai pada 72°C selama 1 menit, produk PCR dikondisikan pada suhu penyimpanan 4°C. Proses pembuatan gel agarosa diawali dengan menyiapkan tray cetakan dan meletakkan sisir guna membentuk sumur *(well)*. Gel dibuat dengan melarutkan 0,5 gram agarosa ke dalam 30 ml buffer TAE hingga larut, dipanaskan menggunakan hotplate dan magnetic stirrer hingga mendidih, lalu ditambahkan 1 µl *GelRed* dan didinginkan hingga suhu ±50°C sebelum dituangkan ke dalam tray hingga mengeras.Tahap elektroforesis dimulai dengan menuangkan buffer TAE 1× ke dalam chamber elektroforesis, lalu gel agarosa yang telah padat ditempatkan ke dalam alat. DNA ladder sebanyak 3 µl dimasukkan ke dalam sumur pertama, diikuti pengisian sampel PCR sepesar 5–6 µl ke dalam sumur berikutnya. Proses elektroforesis dijalankan pada tegangan 50 volt dengan durasi 45 menit setelah tombol start ditekan. Hasil elektroforesis selanjutnya divisualisasikan menggunakan UV transilluminator pada alat dokumentasi gel dengan kondisi penutup ditutup untuk mencegah paparan cahaya eksternal. Setelah

tombol ON ditekan, visualisasi dilakukan melalui monitor atau perangkat eksternal yang terhubung, dan dokumentasi dilakukan dengan pengambilan citra serta penyimpanan hasil analisis visualisasi untuk menentukan keberhasilan isolasi DNA gen HBA berdasarkan pembacaan gen kontrol *GAPDH* terlebih dahulu.

**Tabel 1.** Distribusi Kadar Hb Responden pada pasien pra-transfusi di Rumah Sakit Santa Elisabeth Medan

| Rentang Kadar Hb (g/dL) | Jumlah | Persentase |
|---|---|---|
| **6,0–7,9** | 10 | 50% |
| **8,0–8,8** | 10 | 50% |

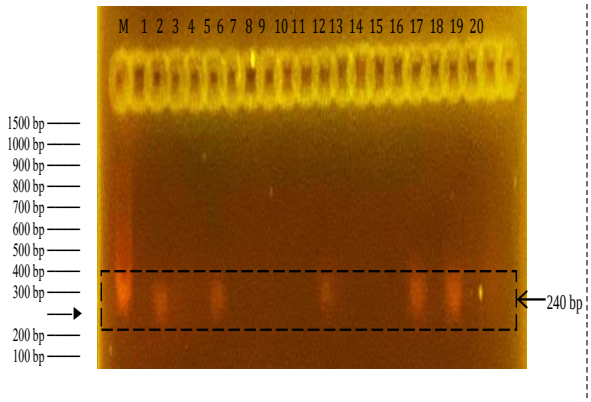
Berdasarkan tabel 1 diketahui 20 pasien pra-transfusi terbagi rata (masing-masing 50%) pada kelompok kadar hemoglobin 6,0–7,9 g/dL dan 8,0–8,8 g/dL.

**Tabel 2.** Frekuensi Hb Pra-Transfusi Berdasarkan Amplifikasi Gen *GAPDH* dan HBA (Nilai Mean, Median, Standar Deviasi, *Minimum, Maximum, 95% CI*)

| Hasil Amplifikasi | n | *Mean* | *Median* | *Std. Deviation* | Min | Max | 95% CI |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ***GAPDH*** | | | | | | | |
| **Tidak Valid** | 14 | 7,87 | 8,00 | 0,7415 | 6,0 | 8,8 | 7,443 – 8,300 |
| **Valid** | 6 | 7,23 | 7,30 | 0,6623 | 6,4 | 8,0 | 6,538 – 7,928 |
| **HBA** | | | | | | | |
| **Tidak Valid** | 7 | 7,81 | 8,00 | 0,8214 | 6,4 | 8,8 | 7,055 – 8,574 |
| **Valid** | 13 | 7,61 | 7,80 | 0,7533 | 6,0 | 8,6 | 7,152 – 8,063 |

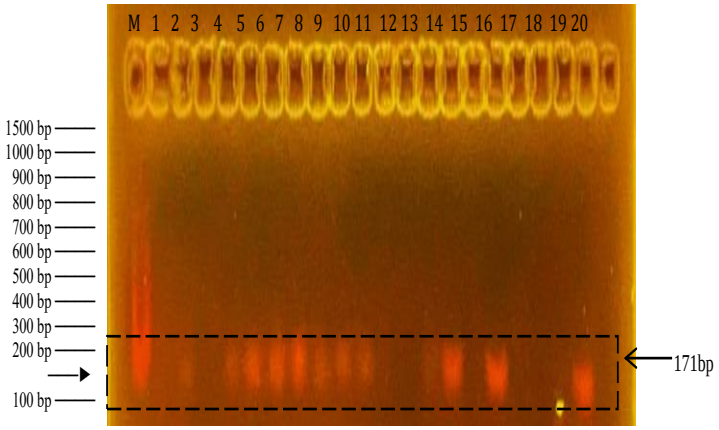
Berdasarkan tabel 2 status pita gen *GAPDH* valid pada 6 pasien (rata-rata Hb 7,23 g/dL) dan tidak valid pada 14 pasien (rata-rata Hb 7,87 g/dL). Sementara itu, status pita gen target HBA valid

**Visualisasi pita DNA gen *Housekeeping GAPDH***




Hasil elektroforesis gen *housekeeping GAPDH* secara duplo mengonfirmasi keberhasilan amplifikasi spesifik gen *GAPDH* berukuran 240 bp yang ditandai dengan munculnya pita DNA valid pada sumuran sampel nomor 1, 5, 12, 17, 19, dan 20.

**Visualisasi pita DNA gen HBA**




Keberhasilan isolasi ditandai dengan Pita DNA gen HBA terdeteksi pada sumuran sampel nomor 1, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10,11, 13, 14, 16, dan 20.

## PEMBAHASAN

Isolasi dalam penelitian ini berfokus pada gen HBA sebagai target utama dan gen *GAPDH* sebagai kontrol internal konstitutif guna menstandarisasi proses ekstraksi DNA (Tupta et al., 2022). Ekstraksi dilakukan menggunakan materi dasar lapisan *buffy coat* leukosit berinti melalui kombinasi metode lisis mekanis, kejutan osmotik aquades, dan purifikasi reagen Tripure beserta sediaan etanol dingin untuk memisahkan molekul DNA dari protein dan lipid.

Hasil visualisasi elektroforesis gel agarosa menunjukkan dominasi pita gen HBA pada ukuran 171 bp yang bermigrasi secara linear berdampingan dengan pita gen *GAPDH* pada posisi 240 bp berdasarkan marker DNA ladder (Rosmini et al., 2024). Perbedaan magnitudo ekspresi alami ini menentukan variasi intensitas pendaran pita elektroforesis yang menggambarkan profil regulasi genetik orisinal pada sel darah pasien (Niati, 2024; Wahyuningsih, 2024; irover, 2017)Dominasi visual gen HBA merefleksikan interaksi kondisi patofisiologis pasien pra-transfusi dengan mekanisme transkripsi genomik. Kondisi anemia kronis atau hipoksia jaringan memicu pengaktifan jalur pensinyalan molekuler sistemik berupa up-regulation atau peningkatan laju transkripsi faktor pemicu pada promoter gen pengode hemoglobin, termasuk kluster gen globin alfa (HBA), sebagai bentuk kompensasi tubuh untuk memproduksi sel darah merah baru (Rujito, 2019; Nidaul Hasanah, 2023). Sebaliknya, efisiensi transkripsi gen *housekeeping GAPDH* dapat mengalami fluktuasi akibat tekanan metabolik ekstrem atau paparan konsumsi agen kelasi besi jangka panjang. Saat berhadapan dengan keterbatasan konsentrasi DNA genomik dari lapisan *buffy coat* yang tipis, tingginya afinitas set primer gen HBA yang berukuran lebih pendek secara efektif mengeliminasi peluang replikasi gen *GAPDH* yang menuntut integritas fragmen lebih panjang (Maryam S. et al., 2022).

Dokumentasi elektroforesis gel agarosa 2,0% dengan pewarna *GelRed* sukses menampilkan pemisahan fragmen secara tajam, kompak, dan berbatas tegas (discrete bands) pada panjang 240 bp untuk *GAPDH* dan 171 bp untuk HBA tanpa disertai gejala seretan kabur (smearing) atau penumpukan primer-dimer (Ahda, 2025; Arianto et al., 2024). Pengujian biomolekuler yang berfokus pada fase pra-transfusi ini sangat krusial guna menjamin akurasi data klinis dan menghindari bias hasil akibat *transfusion-associated microchimerism* atau keberadaan jejak materi genetik donor di dalam tubuh pasien (Sari, 2025). Oleh karena itu, visualisasi pita gen HBA murni yang valid ini menghasilkan rendemen (yield) DNA berkualitas baik yang bebas dari inhibitor PCR dan terhindar dari interpretasi negatif palsu, sehingga menjadi parameter dasar yang akurat dalam memantau risiko reaksi transfusi hemolitik bagi pasien di Rumah Sakit Santa Elisabeth Medan (Hermayanti, 2023; Sari, 2025).

## KESIMPULAN

Penelitian isolasi DNA pada 20 pasien pra-transfusi di RS Santa Elisabeth Medan menunjukkan profil hemoglobin yang homogen dengan rata-rata 7,6 g/dL, yang didominasi oleh pasien Gagal Ginjal Kronik (GGK) hemodialisis. Metode isolasi DNA genomik dari sampel buffy coat terbukti sangat efisien, serta berhasil memetakan gen target (HBA) pada 32 siklus PCR secara akurat dengan validasi gen kontrol GAPDH yang bebas dari risiko negatif palsu.

## DAFTAR PUSTAKA

Ahda, Y. and Putri, D. H. (2025). *Teknik Biologi Molekuler*. Padang,: UNP Press

Arishi, W. A., Yaqinuddin, A. and Sajid, M. R. (2025). Molecular advances in transfusion medicine : a narrative review', *Frontiers in Medicine*, 12(September), pp. 1–4. doi: 10.3389/fmed.2025.1607340.

Basu, S., Gupta, S., Baul, S. N., De, R., Sen, A., Dasgupta, S. and Biswas, A. (2025). Detection of Common Deletion Mutations (– α3.7 and – α4.2 kb) in HBA gene and Genotype-Phenotype Correlation, *Fortune Journals*, 9(2), pp. 122–126. doi: 10.26502/acbr.50170444.

Curcio, C., Scarfò, G., Pugliese, L., Barberio, G. and Irrera, M. A. (2023). 'Hb Wroclaw ( HBA1 : c . 266C > A ) Detected by Capillary Electrophoresis Co-Inherited with Hb Icaria ( HBA2 : c . 427T > A ) Produces Erythrocytosis in an Italian Male', *International Journal of Rare Diseases and Orphan Drugs*, 6(1), p. 1. Available at: https://share.google/kWt3yzK5NY73zaWD0.

Hermayanti, D. (2023). *Dasar-Dasar Hematologi,*

*Hemostasis, Dan Transfusi Darah*. Malang: UMM Press.

Nidaul Hasanah (2023) *Hematologi*. Purbalingga, Jawa Tengah: CV Eureka Media Aksara.

Paloma, I. D. A. N. C. (2023). 'Talasemia : sebuah Tinjauan Pustaka', *Biocity Journal of Pharmacy Bioscience and Clinical Community*, 1(2), pp. 93–104.

Ruhl, A. P., Jeffries, N., Yang, Y., Naik, R. P., Patki, A., Pecker, L. H., Mott, B. T., Zakai, N. A., Winkler, C. A., Kopp, J. B., Lange, L. A., Irvin, M. R., Gutierrez, O. M., Cushman, M. and Ackerman, H. C. (2022). 'Alpha Globin Gene Copy Number Is Associated with Prevalent Chronic Kidney Disease and Incident End-Stage Kidney Disease among Black Americans', *Journal of the American Society of Nephrology*, 33(1), pp. 213–224. doi: 10.1681/ASN.2021050653.

Sirover, M. A. (2017). *Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase (GAPDH)*. Amsterdam, Belanda: Elsevier Science.

Tzyy, E., Chong, J., Poh, L., Goh, W., Png, K. K. and Lee, P. (2021). 'An Improved Protocol for High Quantity and Quality of Genomic DNA Isolation from Human Peripheral Blood', *Current Applied Science and Technology*, 21(3), pp. 445–455. doi: 10.14456/cast.2021.36.

Wahman, J. M., Hijazi, R. X., Duncan, E. and Rocic, P. (2025). Beyond the Blood Cell : The Emerging Role of Cell-Free DNA in Transfusion Medicine, 14(4), pp. 165–173. doi: 10.14740/jh2064.

*World Health Organization (WHO) (2021). WHO Guidelines on Hand Hygiene in Health Care: First Global Patient Safety Challenge Clean Care is Safer Care.* Geneva: WHO Press.

Yadav, S. K., Hussein, G., Liu, B., Vojjala, N., Warsame, M., Labban, M. El, Rauf, I., Hassan, M., Zareen, T., Usama, S. M., Zhang, Y., Jain, S. M., Surani, S. R., Devulapally, P. and Bartlett, B. (2024). A Contemporary Review of Blood Transfusion in Critically Ill Patients , pp. 1–15.