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

Isolasi DNA Gen HbA pada Pasien Anemia di Rumah Sakit Santa Elisabeth Medan Tahun 2026

Isolation of the HbA Gene DNA in Anemia Patients at Santa Elisabeth Hospital Medan in 2026

Neri Telaumbanua[1*]
Paska Ramawati Situmorang[2*]
David Sumanto Napitupulu[3*]
Ruth Agree Kartini Sihombing[4*]

Prodi D4 Teknologi Laboratorium Medis, STIKES Santa Elisabeth Medan

*email:neritbanua@gmail.com

Abstrak

Anemia merupakan kondisi kesehatan yang ditandai dengan penurunan kadar hemoglobin dalam darah, sehingga kemampuan darah dalam mengangkut oksigen dan nutrisi ke jaringan tubuh menjadi berkurang. Salah satu pendekatan biomolekuler yang dapat digunakan untuk mendukung diagnosis anemia adalah analisis genetik, terutama pada gen HbA yang berperan dalam sintesis rantai α-globin sebagai komponen utama hemoglobin. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi DNA gen HbA pada pasien anemia. Rancangan pada penelitian merupakan deskriptif kualitatif dengan pendekatan molekuler. Populasi penelitian adalah pasien anemia menggunakan teknik total sampling dengan jumlah sampel sebanyak 20 orang. Tahapan pemeriksaan meliputi pengambilan darah vena, isolasi DNA dari buffy coat, serta amplifikasi menggunakan metode PCR dengan gen GAPDH sebagai kontrol internal dan gen HbA sebagai gen target. Hasil penelitian menunjukkan bahwa amplifikasi gen GAPDH menghasilkan pita DNA pada ukuran 240 bp dan gen HbA pada ukuran 171 pb. Munculnya pita DNA pada ukuran target menunjukkan bahwa proses amplifikasi berhasil dilakukan. Namun, intensitas dan kejelasan pita bervariasi antar sampel. Secara keseluruhan, isolasi DNA gen HbA pada pasien anemia telah berhasil dilakukan, namun masih diperlukan optimasi lebih lanjut agar diperoleh hasil yang lebih konsisten dan optimal.

Kata Kunci:
Anemia, Gen HbA, Isolasi DNA, PCR, Elektroforesis, GAPDH

Keywords:
Anemia, HbA Gene, DNA Isolasi, PCR, Electrophoresis, GAPDH

Abstract

Anemia is a health condition characterized by a decreased hemoglobin level in the blood, resulting in a reduced capacity of the blood to transport oxygen and nutrients to body tissues. One biomolecular approach that can be used to support the diagnosis of anemia is genetic analysis, particularly of the HbA gene, which plays a role in the synthesis of the α-globin chain as a major component of hemoglobin. This study aimed to isolate HbA gene DNA from patients with anemia. This research employed a qualitative descriptive design with a molecular approach. The study population consisted of anemic patients selected using a total sampling technique, resulting in 20 samples. The examination procedures included venous blood collection, DNA isolation from the buffy coat, and amplification using the Polymerase Chain Reaction (PCR) method, with the GAPDH gene serving as an internal control and the HbA gene as the target gene. The results showed that amplification of the GAPDH gene produced a DNA band at 240 bp, while amplification of the HbA gene produced a DNA band at 171 bp. The appearance of DNA bands at the expected target sizes indicated that the amplification process was successfully performed. However, variations in band intensity and clarity were observed among the samples. Overall, the isolation of HbA gene DNA in patients with anemia was successfully carried out, although further optimization is required to obtain more consistent and optimal results.

PENDAHULUAN

Anemia merupakan salah satu masalah kesehatan yang masih banyak dijumpai dalam pelayanan kesehatan dan dapat memengaruhi kemampuan tubuh dalam menjalankan fungsi fisiologis secara optimal. Kondisi ini ditandai dengan penurunan kadar hemoglobin atau jumlah eritrosit sehingga kapasitas darah dalam mengangkut oksigen ke jaringan menjadi berkurang (Alfitrah & Kusdiantini, 2025). Menurut World Health Organization (WHO), kadar hemoglobin normal pada wanita dewasa adalah ≥12,0 g/dL, pria dewasa ≥13,0 g/dL, dan ibu hamil ≥11,0 g/dL (Abrezi et al., 2025;

Suparmi et al., 2025). Penurunan kadar hemoglobin tersebut dapat mengganggu suplai oksigen seluler dan berdampak pada fungsi berbagai organ tubuh.

Hemoglobin merupakan protein utama dalam eritrosit yang berfungsi mengikat oksigen di paru-paru dan mendistribusikannya ke seluruh jaringan tubuh, serta mengangkut karbon dioksida kembali ke paru-paru untuk dikeluarkan. Faktor genetik diketahui berperan penting dalam patogenesis beberapa jenis anemia, terutama yang berkaitan dengan kelainan hemoglobin dan gangguan eritropoiesis. Mutasi pada gen HBB, HBA1, dan HBA2 dapat menyebabkan hemoglobinopati, termasuk talasemia dan anemia sel sabit, yang berakibat pada terbentuknya hemoglobin abnormal dan menurunnya kemampuan eritrosit dalam membawa oksigen (Sadiq et al., 2024; Vijian et al., 2023).

Hemoglobin A (HbA) merupakan komponen utama hemoglobin normal pada manusia dewasa yang tersusun atas dua rantai α-globin dan dua rantai β-globin. Gen HBA1 dan HBA2 berperan dalam sintesis rantai α-globin, sehingga perubahan atau gangguan pada kedua gen tersebut dapat menyebabkan penurunan produksi HbA dan berkontribusi terhadap terjadinya α-thalasemia (Zhuang & Chen, 2024). Penelitian Iqbal et al. (2024) juga menunjukkan bahwa perubahan struktur gen yang berhubungan dengan HbA dapat memengaruhi fungsi eritrosit dan berperan dalam kejadian anemia.

Pendekatan biomolekuler melalui teknik Polymerase Chain Reaction (PCR) menjadi salah satu metode penting dalam analisis genetik pada kasus anemia. Keberhasilan pemeriksaan PCR sangat dipengaruhi oleh kualitas DNA hasil isolasi.

Proses isolasi DNA bertujuan memisahkan DNA genom dari komponen seluler lainnya melalui tahapan lisis sel dan pemurnian menggunakan buffer ekstraksi untuk menjaga integritas materi genetik (Anjani et al., 2025; Situmorang et al., 2025; Suhaemi et al., 2022). Darah perifer merupakan sampel yang umum digunakan karena leukosit yang terkandung di dalamnya memiliki inti sel dan menjadi sumber utama DNA genom (Prameswari et al., 2025).

Pada pasien anemia, meskipun gangguan utama terjadi pada eritrosit, analisis genetik tetap memanfaatkan DNA yang berasal dari leukosit atau buffy coat karena eritrosit matang tidak memiliki inti sel. Perubahan fisiologis yang menyertai anemia diduga dapat memengaruhi karakteristik sampel dan kualitas DNA yang dihasilkan, sehingga evaluasi proses isolasi DNA pada kondisi tersebut menjadi penting (Wei et al., 2023). Selain itu, penggunaan gen housekeeping, seperti GAPDH (Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase), berfungsi sebagai kontrol internal untuk memastikan keberhasilan proses isolasi dan amplifikasi DNA (Osinski et al., 2022; Wardaszka et al., 2025).

METODE PENELITIAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hasil isolasi DNA gen HbA pada pasien anemia di Rumah Sakit Santa Elisabeth Medan. Rancangan penelitian yang digunakan adalah deskriptif kualitatif dengan pendekatan molekuler yang dilaksanakan pada tanggal 27 April-18 Mei 2026. Populasi penelitian berjumlah 20 pasien yang telah terdiagnosis anemia berdasarkan pemeriksaan kadar hemoglobin. Teknik pengambilan sampel menggunakan total sampling sehingga seluruh populasi dijadikan sebagai sampel penelitian serta memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi.

Sampel darah vena dikumpulkan ke dalam tabung EDTA, kemudian disentrifugasi untuk memisahkan komponen darah dan memperoleh lapisan *buffy coat* sebagai sumber DNA genom. Lapisan *buffy coat* selanjutnya diproses melalui tahapan pencucian dan pemurnian hingga diperoleh DNA yang siap digunakan untuk analisis molekuler.

Isolasi DNA dilakukan menggunakan larutan Tri Pure, diikuti proses presipitasi dengan etanol absolut dingin dan pencucian menggunakan etanol 96% untuk

meningkatkan kemurnian DNA. Endapan DNA yang diperoleh kemudian dikeringkan dan dilarutkan kembali menggunakan *double distilled water* (ddH_2O) sebagai DNA templat.

Amplifikasi DNA dilakukan menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dengan gen *GAPDH* sebagai kontrol internal dan gen *HbA* sebagai gen target. Campuran reaksi PCR terdiri atas *master mix*, primer *forward*, primer *reverse*, DNA templat, dan ddH_2O. Program amplifikasi meliputi denaturasi awal pada suhu 95°C selama 3 menit, tahap *annealing* pada suhu 60°C selama

13 detik, serta elongasi pada suhu 72°C selama 1 menit.

Hasil PCR kemudian divisualisasikan menggunakan elektroforesis gel agarosa dalam buffer TAE dengan tegangan 50 volt selama 45 menit. Hasil elektroforesis diamati menggunakan *UV transilluminator* untuk menilai keberhasilan isolasi dan amplifikasi DNA gen *HbA*. Data penelitian dianalisis secara deskriptif dan disajikan dalam bentuk tabel, persentase, serta interpretasi visual pita DNA yang dihasilkan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

HASIL

Hasil kadar Hb pada pasien anemia melalui *hematology analyzer* dapat dilihat pada tabel berikut ini :

Tabel 1. Distribusi Kadar Hb pada Pasien Anemia di Rumah Sakit Santa Elisabeth Medan

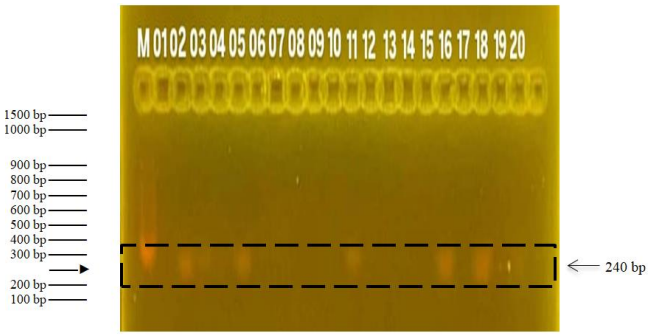
Jenis Kelamin	Frekuensi	Persentase (%)	Hb Normal	Range Kadar Hb	Keterangan
Laki-Laki	8	40,0	13-17 gr/dL	7,5-10,7 gr/dl	Anemia
Perempuan	12	60,0	12-15 gr/dL	6,2-10,2 gr/dL	Anemia
Total	20	100,0			

Berdasarkan Tabel 1 jumlah responden perempuan lebih dominan yaitu sebanyak 12 orang (60,0%), sedangkan responden laki-laki berjumlah 8 orang (40,0%), dengan total keseluruhan responden 20 orang (100,0%). Hasil pemeriksaan menunjukkan kadar Hb responden laki-laki berkisar antara 7,5-10,7 gr/dL dan kadar Hb perempuan berkisar antara 6,2-10,2 gr/dL. Dengan demikian, dapat dipastikan bahwa seluruh responden adalah pasien anemia yang memiliki kadar Hb di bawah normal.

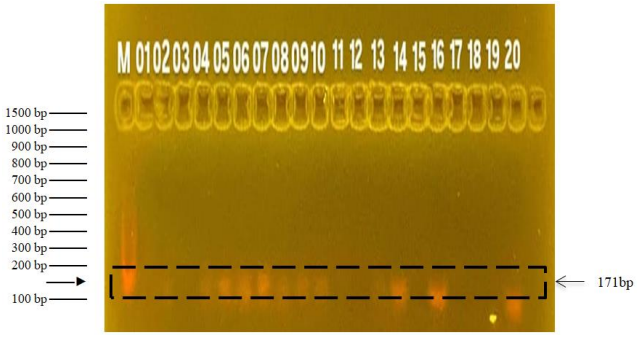
Tabel 2. Distribusi Frekuensi Kadar Hb Responden Berdasarkan Nilai Mean, Median, Standar Deviasi, Minimum, Maximum, 95% CI

Variabel	Mean	Median	Standar deviasi	Min	Max	95% CI
Kadar Hb (gr/dL)	9,2	9,4	1,1577	6,2	10,7	8,723-9,807

Nilai rata-rata kadar Hb terhadap 20 responden adalah sebesar 9,2 gr/dL dengan nilai median sebesar 9,4 gr/dL yang sedikit lebih tinggi dari nilai rata-rata. Nilai standar deviasi sebesar 1,1577 yang menunjukkan adanya variasi kadar Hb antar responden. Interval kepercayaan 95% (95% CI) untuk nilai rata-rata kadar Hb berada antara 8,723 hingga 9,807 gr/dL.



Gambar a. Hasil Isolasi DNA gen GAPDH



Gambar b. Hasil Isolasi DNA Gen HbA

Gambar a dan b menunjukkan hasil visualisasi elektroforesis gen kontrol GAPDH dari 20 sampel pasien anemia. Hasil elektroforesis menunjukkan adanya pita DNA yang menandakan bahwa proses isolasi DNA dan amplifikasi PCR telah berhasil dilakukan. Pada gen GAPDH, pita DNA terdeteksi pada ukuran 240 bp sedangkan gen HbA diperoleh pita DNA pada ukuran 171 bp. Munculnya pita DNA pada ukuran target menunjukkan bahwa primer yang digunakan berhasil terdeteksi dan teramplifikasi secara spesifik.

PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan variasi kadar hemoglobin (Hb) antarjenis kelamin pada pasien anemia. Kadar Hb pada laki-laki berkisar 7,5–10,7 g/dL, sedangkan pada perempuan berkisar 6,2–10,2 g/dL, dengan jumlah kasus anemia yang lebih banyak ditemukan pada perempuan. Pola ini sejalan dengan mekanisme fisiologis yang telah banyak dilaporkan: hormon testosteron pada laki-laki merangsang eritropoiesis sehingga kadar Hb cenderung lebih tinggi, sementara pada perempuan kehilangan darah periodik akibat menstruasi menjadi kontributor utama rendahnya kadar Hb (Pitaloka dkk., 2025). Selain faktor hormonal, penurunan kadar Hb juga dipengaruhi oleh defisiensi besi, gangguan eritropoiesis di sumsum tulang, penyakit kronis, dan kehilangan darah kronis. Pada defisiensi besi, sintesis Hb berlangsung tidak optimal sehingga eritrosit yang terbentuk berukuran lebih kecil dan tampak pucat (mikrositik-hipokromik) (Fauzi dkk., 2024). Faktor gizi turut berperan penting; Utami dkk. (2022) melaporkan bahwa rendahnya kadar Hb berkaitan dengan asupan nutrisi yang kurang serta rendahnya pengetahuan gizi pada populasi berisiko. Temuan ini menegaskan bahwa pencegahan anemia memerlukan pendekatan menyeluruh, tidak terbatas pada edukasi kesehatan, tetapi juga peningkatan akses terhadap pangan bergizi.

Isolasi DNA merupakan tahap krusial dalam pemeriksaan biomolekuler karena kualitas DNA yang diperoleh menentukan keberhasilan amplifikasi PCR. DNA berkualitas baik menghasilkan pita amplifikasi yang jelas dan mudah diinterpretasikan pada elektroforesis, sedangkan DNA dengan konsentrasi rendah, terdegradasi, atau mengandung inhibitor cenderung menghasilkan pita yang samar bahkan tidak terbentuk sama sekali (Hedge et al., 2022; Latham et al., 2023; Schulze et al., 2023). Gen HbA menyandi rantai α-globin, salah satu komponen utama hemoglobin yang berperan dalam pengikatan dan transportasi oksigen. Dalam penelitian ini, gen HbA digunakan sebagai gen target dan GAPDH sebagai kontrol internal untuk memverifikasi kelayakan DNA hasil isolasi. Visualisasi elektroforesis menunjukkan pita DNA GAPDH pada 240 bp dan HbA pada 171 bp, mengindikasikan bahwa proses isolasi DNA dan amplifikasi PCR berhasil dilakukan serta primer yang digunakan spesifik terhadap daerah target. Keberhasilan amplifikasi gen HbA juga mengonfirmasi

bahwa DNA genom yang diperoleh memiliki kualitas memadai untuk mendeteksi fragmen gen terkait pembentukan hemoglobin.

Meskipun demikian, sebagian sampel menunjukkan pita yang kurang tegas. Kondisi ini diduga terkait dengan variasi kualitas buffy coat sebagai sumber DNA, mengingat jumlah leukosit yang berbeda antarsampel dapat memengaruhi konsentrasi DNA yang diperoleh. Kumar dkk. (2023) melaporkan bahwa DNA hasil isolasi dari buffy coat umumnya berkualitas baik untuk pemeriksaan genetik, namun hasilnya tetap dipengaruhi oleh jumlah leukosit dan ketepatan proses pemisahan buffy coat pada tahap preparasi. Faktor lain yang diduga memengaruhi kualitas DNA adalah kondisi anemia itu sendiri. Pada beberapa jenis anemia, peningkatan stres oksidatif dapat merusak komponen seluler, termasuk DNA, sehingga menurunkan integritas materi genetik dan berdampak pada intensitas pita hasil amplifikasi. Chiorcea-Paquim (2022) menjelaskan bahwa stres oksidatif dapat memicu lesi DNA yang berpotensi mengganggu stabilitas molekul DNA, sejalan dengan temuan pita yang lebih samar pada sebagian sampel dalam penelitian ini.

Temuan ini menegaskan bahwa metode isolasi DNA dari buffy coat layak digunakan untuk deteksi gen HbA pada pasien anemia, dengan GAPDH sebagai kontrol internal yang efektif untuk menjamin validitas hasil amplifikasi. Variasi intensitas pita pada beberapa sampel menunjukkan perlunya standardisasi lebih ketat pada tahap preparasi buffy coat serta pertimbangan terhadap kondisi klinis subjek, seperti derajat anemia dan potensi stres oksidatif, yang dapat memengaruhi kualitas DNA. Penelitian lanjutan dengan jumlah sampel lebih besar serta pengukuran langsung terhadap parameter stres oksidatif disarankan untuk memperkuat kesimpulan mengenai hubungan antara anemia dan integritas DNA genom.

KESIMPULAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa seluruh sampel pasien anemia memiliki kadar hemoglobin di bawah nilai normal, dengan rentang 6,2–10,7 g/dL. Proses isolasi DNA genom dari sampel darah pasien anemia berhasil dilakukan dan dilanjutkan dengan amplifikasi gen GAPDH dan gen HbA menggunakan metode PCR. Hasil elektroforesis menunjukkan terbentuknya pita DNA gen GAPDH pada ukuran 240 bp dan gen HbA pada ukuran 171 bp sesuai dengan target yang diharapkan, sehingga mengindikasikan keberhasilan isolasi DNA dan identifikasi gen yang diteliti. Meskipun demikian, intensitas pita DNA yang masih tampak samar menunjukkan bahwa kualitas amplifikasi belum sepenuhnya optimal. Oleh karena itu, diperlukan optimalisasi pada tahap preparasi sampel, proses isolasi DNA, dan kondisi PCR untuk meningkatkan kualitas hasil analisis biomolekuler pada penelitiann selanjutnya.

DAFTAR PUSTAKA

Abrezi, F., Siregar, A., Kesehatan, P., Palembang, K., & Selatan, S. (2025). Pengaruh pemberian stik ikan gabus mix daun chaya dan jamur tiram terhadap kadar hemoglobin pasien anemia defisiensi besi. *Journal of Nutrition College*, *14*(2), 193–202.

Alfitrah, S., & Kusdiantini, A. (2025). Gambaran Nilai Indeks Eritrosit pada Pasien Anemia di Rumah Sakit X. *Dinasti Helath And Pharmacy Science*, *3*(1), 1–7.

Ana-Maria Chiorcea-Paquim. (2022). 8-oxoguanine and 8-oxodeoxyguanosine Biomarkers of Oxidative DNADamage: AReview on HPLC–ECDDetermination. *Molecules*, 1–18.

Anjani, A. A., Hartinah, D., Kurnia, S. D., Rusidah, Y., & Saputro, A. A. (2025). Pengaruh Stabilitas Sampel Darah EDTA Terhadap Pemeriksaan Hemoglobin dan Hematokrit pada Karyawan Puskesmas Kedung II Metode Otomatis The Effect of EDTA Blood Sample Stability on Hemoglobin and Hematocrit Examination in Kedung II Public Health Center Emp. *Jurnal Laboratorium Medis*, *07*(01), 76–85.

Fauzi, A., Novilla, A., Ratna, N., & Iis, N. (2024). *Perbandingan Kadar Hemoglobin Menggunakan POCT (Point Care Of Testing) dengan Alat Hematology Analyzer Pada Pasien Normal dan Anemia Abstrak*. *16*(September), 386–394.

Hedge, R., Hedge, S., Joshi, P., Gai, P. P., Kulkarni, S. S., & Gai, P. B. (2022). Rapid and inexpensive

method of PCR ready DNA isolation from human peripheral blood and saliva. *Analytical Biochemistry*, *655*, 114852. (https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0003269722003128?via%3Dihub, diakses 21 Mei 2026)

Kumar, U. (2023). Assessment of extracted DNA from whole blood and buffy coat in healthy individuals. *International Journal of Clinical Biochemistry and Research*, *10*(2), 179–183.

Latham, S., Hughes, E., Budgen, B., & Id, A. M. (2023). *Inhibition of the PCR by genomic DNA*. 1–11.

Osinski, B. L., Bentaieb, A., Ho, I., Jones, R. D., Joshi, R. P., Carlson, M., Willis, C., Schleicher, L., Mahon, B. M., & Stumpe, M. C. (2022). AI-augmented histopathologic review using image analysis to optimize DNA yield and tumor purity from FFPE slides. *Cornell University*, *60654*(833).

Pitaloka, A., Sholikah, M. P., Medis, T. L., & Kesehatan, F. I. (2025). *Perbandingan Kadar Hemoglobin dan Hematokrit Saat Menstruasi dan Sesudah Menstruasi pada Remaja Putri*. *4*(3), 827–836.

Prameswari, F. D., Rohmah, J., Aliviameita, A., & Mushlih, M. (2025). Optimasi Kecepatan Sentrifugasi Sampel Darah untuk Pemeriksaan Diabetes Melitus Tipe 2 (T2D) Berbasis Molekuler. *Journal of Health (JoH)*, *12*(2), 161–167.

Sadiq, I. Z., Abubakar, F. S., Usman, H. S., & Abdullahi, A. D. (2024). *Thalassemia : Pathophysiology , Diagnosis , and Advances in Treatment*. 81–102.

Schulze, K., Hannah, J., Peter, B., Heidi, W., & Marielle, P. (2023). Detecting DNA damage in stored blood samples. *Forensic Science, Medicine and Pathology*, 50–59.

Situmorang, P. R., Gaurifa, I. T., Sumanto, D., Napitupulu, & Sihombing, R. A. K. (2025). *Deteksi Gen Hemoglobin E (Hbe) Metode Elektroforesis Gel Pada Anemia Di Rumah Sakit Santa Elisabeth Medan*. *7*(12), 5367–5375.

Suhaemi, Z., Hidayati, S. G., Peternakan, F., Andalas, U., Barat, S., Sains, F., Nahdlatul, U., Sumbar, U., Barat, S., Pertanian, F., Tamansiswa, U., & Barat, S. (2022). *Intensitas dan presentase Keberhasilan Isolasi DNA Darah Itik Lokal Sumatera Barat pada Lama Inkubasi Lysis Sel Yang Berbeda*. *2*(2), 293–298.

Suparmi, Latifah, F., Hussana, A., & Ratnawati, R. (2025). *Pemeriksaan hemoglobin dan konsultasi kesehatan untuk pencegahan anemia*. *6*(10), 1005–1014.

Utami, A., Margawati, A., Pramono, D., & D. R. Wulandari, D. R. (2022). Prevalence of Anemia and Correlation with Knowledge, Nutritional Status, Dietary Habits among Adolescent Girls at Islamic Boarding School. *Jurnal Gizi Indonesia (The Indonesian Journal of Nutrition)*, *10*(2), 114–121.

Vijian, D., Suriana, W., Ab, W., Ponnuraj, K. T., Zulkafli, Z., Bahar, R., Yasin, N., Hassan, S., & Esa, E. (2023). *Gene Mutation Spectrum among Alpha-Thalassaemia Patients in Northeast Peninsular Malaysia*.

Wardaszka, A., Smolarska, A., & Bednarczyk, P. (2025). Selection of Stable Reference Genes for Gene Expression Studies in Activated and Non-Activated PBMCs Under Normoxic and Hypoxic Conditions. *International Journal of Molecular Sciences*, 1–22.

Wei, Z., Xie, L., Wang, Y., Zhuang, J., & Niu, J. (2023). Red Blood Cell Lysis Pretreatment Can Significantly Improve the Yield of Treponema pallidum DNA from Blood. *Microbiol Spectrum*, *11*(3), 1–8.

Zhuang, J., & Chen, C. (2024). *generation sequencing identified two rare α - - chain variants leading to hemoglobin variants in Chinese population*. *September 2023*, 1–8.