UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Deteksi Mutasi IVSI-5 (G>C) Gen Beta-Globin pada Keluarga Pasien Beta-Thalassemia di RSUD Tidar, Kota Magelang
Adifa Brahmantya Darudhita, Prof. Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

SKRIPSI

DETEKSI MUTASI IVSI-5 (G>C) GEN *β-GLOBIN* PADA KELUARGA PASIEN β-THALASSEMIA DI RSUD TIDAR, KOTA MAGELANG

Disusun Oleh :

Adifa Brahmantya Darudhita

22/495016/BI/10981

FAKULTAS BIOLOGI

UNIVERSITAS GADJAH MADA

YOGYAKARTA

2026

Deteksi Mutasi IVSI-5 (G>C) Gen Beta-Globin pada Keluarga Pasien Beta-Thalassemia di RSUD Tidar, Kota Magelang
Adifa Brahmantya Darudhita, Prof. Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

SKRIPSI

DETEKSI MUTASI IVSI-5 (G>C) GEN *β-GLOBIN* PADA KELUARGA PASIEN β-THALASSEMIA DI RSUD TIDAR, KOTA MAGELANG

Disusun untuk memenuhi persyaratan
guna memperoleh Sarjana Sains
Program Studi Biologi

Dosen Pembimbing Skripsi:
Prof. Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.
NIP. 196512281991032006

Disusun Oleh :
Adifa Brahmantya Darudhita
22/495016/BI/10981

FAKULTAS BIOLOGI
UNIVERSITAS GADJAH MADA
YOGYAKARTA
2026

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Deteksi Mutasi IVSI-5 (G>C) Gen Beta-Globin pada Keluarga Pasien Beta-Thalassemia di RSUD Tidar, Kota Magelang
Adifa Brahmantya Darudhita, Prof. Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

HALAMAN PENGESAHAN
SKRIPSI

DETEKSI MUTASI IVSI-5 (G>C) GEN *β-GLOBIN* PADA KELUARGA PASIEN β-THALASSEMIA DI RSUD TIDAR, KOTA MAGELANG

Disusun oleh:
Adifa Brahmantya Darudhita
22/495016/BI/10981

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji pada tanggal 05 Januari 2026 dan dinyatakan memenuhi syarat

Yogyakarta, 12 Januari 2026

Tim Penguji

Ketua Penguji

Dr. Laksmindra Fitria, S.Si., M.Si.
NIP. 197510162002122001

Dekan

Prof. Dr. Budi Setiadi Daryono, M.Agr.Sc.
NIP. 197003261995121001

Pembimbing Utama

Prof. Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.
NIP. 196512281991032006

Anggota Penguji

Prof. Dr. Rarastoeti Pratiwi, M.Sc.
NIP. 196310251989032001

Dipindai dengan CamScanner

UNIVERSITAS
GADJAH MADA

Deteksi Mutasi IVSI-5 (G>C) Gen Beta-Globin pada Keluarga Pasien Beta-Thalassemia di RSUD Tidar, Kota Magelang
Adifa Brahmantya Darudhita, Prof. Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

PERNYATAAN BEBAS PLAGIASI

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama	: Adifa Brahmantya Darudhita
NIM	: 22/495016/BI/10981
Tahun terdaftar	: 2022
Program Studi	: S1 Biologi
Fakultas/Sekolah	: Biologi

Menyatakan bahwa dalam dokumen ilmiah ~~Tugas Akhir~~/Skripsi/~~Tesis~~/~~Disertasi~~* ini tidak terdapat bagian dari karya ilmiah lain yang telah diajukan untuk memperoleh gelar akademik di suatu lembaga Pendidikan Tinggi, dan juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang/lembaga lain, kecuali yang secara tertulis disitasi dalam dokumen ini dan disebutkan secara lengkap dalam daftar pustaka.

Dengan demikian saya menyatakan bahwa dokumen ilmiah ini bebas dari unsur-unsur plagiasi dan apabila dokumen ilmiah ~~Tugas Akhir~~/Skripsi/~~Tesis~~/~~Disertasi~~* ini di kemudian hari terbukti merupakan plagiasi dari hasil karya penulis lain dan/atau dengan sengaja mengajukan karya atau pendapat yang merupakan hasil karya penulis lain, maka penulis bersedia menerima sanksi akademik dan/atau sanksi hukum yang berlaku.

Yogyakarta, 13 Desember 2025



Adifa Brahmantya Darudhita
22/495016/BI/10981

*Pilih salah satu yang sesuai

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Deteksi Mutasi IVSI-5 (G>C) Gen Beta-Globin pada Keluarga Pasien Beta-Thalassemia di RSUD Tidar, Kota Magelang
Adifa Brahmantya Darudhita, Prof. Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

PRAKATA

Puji syukur kehadirat Tuhan Yang Maha Esa karena atas rahmat dan karunia-Nya, penulis dapat menyelesaikan naskah skripsi yang berjudul "**Deteksi Mutasi IVSI-5 (G>C) Gen *β-Globin* pada Keluarga Pasien β-Thalassemia di RSUD Tidar, Kota Magelang"** sesuai dengan ketentuan.

Naskah Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk mencapai derajat Sarjana Sains Program Studi Biologi di Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada. Naskah proposal ini tidak lepas dari masukan, saran, dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Budi Setiadi Daryono, M.Agr.Sc. selaku Dekan Fakultas Biologi UGM.
2. Prof. Dr. Bambang Retnoaji, S.Si., M.Sc. selaku Wakil Dekan Akademik dan Kemahasiswaan.
3. Sukirno S.Si., M.Sc., Ph.D. selaku Ketua Program Studi Biologi Fakultas Biologi UGM.
4. Prof. Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc. selaku Dosen Pembimbing Skripsi, Dosen Pembimbing Akademik, dan Dosen Penguji I yang senantiasa memberikan motivasi, dukungan, serta masukan yang membangun dalam penyusunan naskah skripsi dari awal hingga akhir, juga memfasilitasi jalannya penelitian.
5. Prof. Dr. Rarastoeti Pratiwi, M.Sc. selaku Dosen Penguji II, atas saran dan masukan yang diberikan kepada penulis.
6. Dr. Laksmindra Fitria, S.Si., M.Si. selaku Dosen Penguji III sekaligus Ketua Penguji, atas saran dan masukan yang diberikan kepada penulis.
7. dr. Woro Triaksiwi Wulansari, M.Sc., Sp.A. selaku Ketua POPTI Magelang.
8. Indra Lesmana, S.Si., M.Sc. selaku dosen pendamping penelitian skripsi, atas saran positif, ide, kritik, dan bantuan yang diberikan kepada penulis.
9. Nafis Muhimmatul'Ulya, S.Si, dan Alifia Nur Hidayah, S.Si. selaku kakak tingkat yang membantu penuh proses penelitian skripsi dari awal hingga

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Deteksi Mutasi IVSI-5 (G>C) Gen Beta-Globin pada Keluarga Pasien Beta-Thalassemia di RSUD Tidar, Kota Magelang
Adifa Brahmantya Darudhita, Prof. Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

akhir dan selalu memberikan motivasi juga dukungan dalam penyusunan naskah skripsi.

10. Keluarga POPTI Magelang yang telah bersedia untuk berpartisipasi dalam penelitian ini.
11. Alm. Bapak Subagyo Hadi Saputro, Ibu Rina Muldinawati Rahayu, Mas Zopfan, Mas Reinaldy, Mas Yerick, Mas Danang, Mas Rifqi, Kak Bella, Teh Feni, Mbak Nikita, Teh Puti dan seluruh keluarga yang selalu memberikan doa, mendampingi, memberikan dukungan, kekuatan, serta selalu menyemangati penulis tiada henti.
12. Tim Penelitian Thalassemia yaitu Muhammad Syahrul Firdaus, Kyla Tattvara, dan Yohana Adiastika Puspita yang telah membantu jalannya penelitian.
13. Rekan-rekan satu bimbingan yaitu Muhammad Syahrul Firdaus, Kyla Tattvara, Yohana Adiastika Puspita, Citra Maharani Sukma, Hanan Zharifah Zahra, dan Kezia Uenike yang selalu mendukung dan memotivasi penulis.
14. Trissa Amalia Putri selaku rekanita yang selalu menemani dan mencintai penulis dengan sepenuh hati di kala suka maupun duka.
15. Rekan-rekan Nilai A yaitu Rama, Naufal, Adit, Salman, Gafra, Daffa, Natan, Carlo, Kadzim, Fahrezi yang selalu memberikan informasi penting seputar dunia perkuliahan dan hiburan jenaka untuk penulis.
16. Rekan-rekan FORMASIGEN (Forum Mahasiswa Peneliti Genetika) yang senantiasa memberikan semangat dan saling membantu.
17. Semua pihak yang membantu proses penyusunan naskah skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis berharap naskah skripsi yang telah disusun ini dapat memberikan manfaat bagi seluruh sivitas akademika Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada, rekan peneliti, dan masyarakat luas baik di dalam maupun di luar negeri.

Yogyakarta, 12 Januari 2026

Penulis

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Deteksi Mutasi IVSI-5 (G>C) Gen Beta-Globin pada Keluarga Pasien Beta-Thalassemia di RSUD Tidar, Kota Magelang
Adifa Brahmantya Darudhita, Prof. Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL ..... **ii**
HALAMAN PENGESAHAN ..... **iii**
PERNYATAAN BEBAS PLAGIASI ..... **iv**
PRAKATA ..... **v**
DAFTAR ISI ..... **vii**
DAFTAR TABEL ..... **ix**
DAFTAR GAMBAR ..... **x**
DAFTAR LAMPIRAN ..... **xi**
INTISARI ..... **xii**
ABSTRACT ..... **xiii**
BAB I PENDAHULUAN **1**
A. Latar belakang 1
B. Permasalahan 4
C. Tujuan Penelitian 4
D. Manfaat penelitian 4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA DAN HIPOTESIS **5**
A. Tinjauan Pustaka 5
1. Darah 5
2. Eritrosit 5
3. Hemoglobin 7
4. Thalassemia 10
5. Thalassemia di Jawa Tengah 16
6. *Amplification Refractory Mutation System* (ARMS) 18
B. Hipotesis 19
BAB III **20**
METODE PENELITIAN **20**
A. Waktu dan Tempat Penelitian 20
B. Subjek Penelitian 20
C. Bahan dan Alat 21
1. Bahan 21
2. Alat 22
D. Cara Kerja 23

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Deteksi Mutasi IVSI-5 (G>C) Gen Beta-Globin pada Keluarga Pasien Beta-Thalassemia di RSUD Tidar, Kota Magelang
Adifa Brahmantya Darudhita, Prof. Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

1. Koleksi Sampel 23
2. Ekstraksi DNA 23
3. Kuantifikasi DNA 25
4. Elektroforesis DNA Genom 25
5. Amplifikasi dengan *Amplification Refractory Mutation System* (ARMS-PCR) 26
6. Elektroforesis *Gel Agarose* dan Visualisasi Pita DNA 27

E. Analisis Data 27

BAB IV 29

HASIL DAN PEMBAHASAN 29

A. Ekstraksi DNA 29
B. Elektroforesis DNA Genom 30
C. Deteksi Mutasi IVSI-5 (G>C) 32
D. *Pedigree* Keluarga Pasien β-Thalassemia 34

BAB V 39

KESIMPULAN DAN SARAN 39

A. Kesimpulan 39
B. Saran 39

DAFTAR PUSTAKA 40

LAMPIRAN 43

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Deteksi Mutasi IVSI-5 (G>C) Gen Beta-Globin pada Keluarga Pasien Beta-Thalassemia di RSUD Tidar, Kota Magelang
Adifa Brahmantya Darudhita, Prof. Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Persentase jenis hemoglobin pada manusia dengan riwayat β-thalassemia dan manusia dewasa normal.....10
Tabel 2. Prevalensi alel mutan *β-globin* pada pasien β-thalassemia di RSUD Tidar.....18
Tabel 3. Subjek keluarga pasien β-thalassemia di RSUD Tidar yang diteliti..... 21
Tabel 4. Primer yang digunakan pada ARMS-PCR.....22
Tabel 5. Komposisi reagen PCR untuk reaksi ARMS-PCR.....26
Tabel 6. Pengaturan *thermocycler* untuk ARMS-PCR.....27
Tabel 7. Konsentrasi dan rasio absorbansi DNA berdasarkan spektrofotometri.....29
Tabel 8. Kondisi hematologis pasien β-thalassemia di RSUD Tidar Kota Magelang.....35
Tabel 9. Indeks korpuskular pasien β-thalassemia di RSUD Tidar Kota Magelang.....35

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Deteksi Mutasi IVSI-5 (G>C) Gen Beta-Globin pada Keluarga Pasien Beta-Thalassemia di RSUD Tidar, Kota Magelang
Adifa Brahmantya Darudhita, Prof. Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Proses pembentukan eritrosit.....7
Gambar 2. Struktur kuartener hemoglobin.....8
Gambar 3. Posisi kluster gen *β-globin* pada kromosom 11 serta *α-globin* pada kromosom 16.....9
Gambar 4. Posisi mutasi pada gen *β-globin*.....15
Gambar 5. Letak mutasi IVSI-5 pada gen *β-globin*.....16
Gambar 6. Posisi primer ARMS-PCR.....19
Gambar 7. Visualisasi elektroforesis DNA genom.....30
Gambar 8. Elektroforesis hasil ARMS-PCR mutasi IVSI-5 (G>C) 32
Gambar 9. *Pedigree* keluarga pasien β-Thalassemia dengan mutasi IVSI-5 (G>C).....36
Gambar 10. Elektroforesis hasil RFLP-PCR mutasi Cd26.....37

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Deteksi Mutasi IVSI-5 (G>C) Gen Beta-Globin pada Keluarga Pasien Beta-Thalassemia di RSUD Tidar, Kota Magelang
Adifa Brahmantya Darudhita, Prof. Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Tahapan uji elektroforesis DNA Genom.....43
Lampiran 2. Tahapan uji elektroforesis hasil ARMS-PCR mutasi IVSI-5 (G>C).....44
Lampiran 3. Nilai rujukan pemeriksaan hematologis.....45
Lampiran 4. Nilai rujukan indeks korpuskular.....46

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Deteksi Mutasi IVSI-5 (G>C) Gen Beta-Globin pada Keluarga Pasien Beta-Thalassemia di RSUD Tidar, Kota Magelang
Adifa Brahmantya Darudhita, Prof. Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

DETEKSI MUTASI IVSI-5 (G>C) GEN *β-GLOBIN* PADA KELUARGA PASIEN β-THALASSEMIA DI RSUD TIDAR, KOTA MAGELANG

Adifa Brahmantya Darudhita

22/495016/BI/10981

Dosen Pembimbing: Prof. Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.

INTISARI

Thalassemia adalah salah satu penyakit hemolitik herediter yang diakibatkan karena tidak ada sama sekali sintesis rantai globin atau kurangnya sintesis rantai globin sebagai pembentuk utama struktur molekul hemoglobin. Mutasi yang terjadi pada gen *β-globin* atau *α-globin* dapat menyebabkan rendahnya sintesis rantai globin. Suatu mutasi yang terdapat pada gen *β-globin* disebut dengan β-thalassemia, sementara mutasi yang terdapat pada gen *α-globin* disebut dengan α-thalassemia. Kumpulan gen *β-globin* berlokasi pada lengan pendek kromosom 11. Mutasi IVSI-5 (G>C) sendiri adalah mutasi pada gen *β-globin* yang sering dijumpai di etnis Jawa-Sunda. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi adanya mutasi IVSI-5 (G>C) pada 24 sampel saliva serta dua sampel *swab* anggota keluarga pasien β-thalassemia di RSUD Tidar Kota Magelang, dan untuk mengetahui genotipe dari subjek keluarga pasien β-thalassemia yang diteliti. Teknik deteksi yang digunakan yaitu ARMS-PCR (*Amplification Refractory Mutation System-Polymerase Chain Reaction*). Hasil penelitian menunjukkan adanya varian mutasi IVSI-5 (G>C) pada salah satu anak kandung pasien β-thalassemia yang dengan genotipe heterozigot/*carrier*.

KATA KUNCI : ARMS-PCR (*Amplification Refractory Mutation System-Polymerase Chain Reaction*), β-thalassemia, *β-globin*, IVSI-5 (G>C), *pedigree*

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Deteksi Mutasi IVSI-5 (G>C) Gen Beta-Globin pada Keluarga Pasien Beta-Thalassemia di RSUD Tidar, Kota Magelang
Adifa Brahmantya Darudhita, Prof. Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

DETECTION OF IVSI-5 (G>C) MUTATION IN *β-GLOBIN* GENE IN FAMILIES OF β-THALASSEMIA PATIENTS AT TIDAR HOSPITAL, MAGELANG CITY

Adifa Brahmantya Darudhita

22/495016/BI/10981

Supervisor: Prof. Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.

ABSTRACT

Thalassemia is a hereditary hemolytic disease caused by the complete absence of globin chain synthesis or a deficiency in globin chain synthesis, which is the main component of the hemoglobin molecule. Mutations in the *β-globin* or *α-globin* genes can lead to low globin chain synthesis. A mutation found in the *β-globin* gene is called β-thalassemia, while a mutation found in the *α-globin* gene is called α-thalassemia. The *β-globin* gene cluster is located on the short arm of chromosome 11. The IVSI-5 (G>C) mutation itself is a mutation in the *β-globin* gene that is commonly found in the Javanese-Sundanese ethnic group. This study aimed to detect the presence of the IVSI-5 (G>C) mutation in 24 saliva samples and two swab samples from family members of β-thalassemia patients at Tidar Regional General Hospital in Magelang City, and to determine the genotype of the family members of the β-thalassemia patients studied. The detection technique used was ARMS-PCR (Amplification Refractory Mutation System-Polymerase Chain Reaction). The results showed the presence of the IVSI-5 (G>C) mutation variant in one of the biological children of a β-thalassemia patient with a heterozygous/carrier genotype.

KEY WORDS : ARMS-PCR (Amplification Refractory Mutation System-Polymerase Chain Reaction), β-thalassemia, *β-globin*, IVSI-5 (G>C), pedigree

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Deteksi Mutasi IVSI-5 (G>C) Gen Beta-Globin pada Keluarga Pasien Beta-Thalassemia di RSUD Tidar, Kota Magelang
Adifa Brahmantya Darudhita, Prof. Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

BAB I
PENDAHULUAN

A. Latar belakang

Thalassemia merupakan salah satu penyakit hemolitik yang bersifat turun-temurun dan menyebabkan sel darah merah (eritrosit) mengalami kerusakan atau pecah (hemolisis) sebelum mencapai usia normalnya. Penyakit ini dicirikan dengan berkurangnya atau tidak terbentuknya sintesis rantai globin sebagai komponen utama pembentuk hemoglobin. Eksistensi mutasi pada gen *globin* membuat kondisi tersebut dapat terjadi. Kelainan pada rantai globin ini mengakibatkan penurunan fungsi hemoglobin, yaitu ketidakmampuannya dalam mengikat serta menyalurkan oksigen secara optimal ke jaringan tubuh (Hassan, 2012; Wahed & Dasgupta, 2015; Tamam *et al.,* 2010).

Berdasarkan jenisnya, thalassemia diklasifikasikan menjadi dua jenis, yaitu α-thalassemia, dan β-thalassemia yang dibedakan berdasarkan gen *globin* yang mengalami mutasi. Kedua jenis thalassemia tersebut merupakan bentuk yang umum ditemukan. α-thalassemia banyak dijumpai pada populasi etnis Asia, yang disebabkan oleh penurunan sintesis rantai *α-globin* dalam hemoglobin. Empat gen fungsional *α-globin* (α/α, α/α) pada kromosom 16 selalu dimiliki oleh setiap individu normal. Pada penderita α-thalassemia, sebagian atau seluruh gen *α-globin* dapat hilang akibat delesi. Jumlah gen *α-globin* yang terhapus menentukan tingkat keparahan klinis α-thalassemia (Rujito, 2019; Wahed & Dasgupta, 2015). Suatu kelainan darah yang ditandai dengan berkurangnya atau tidak adanya sintesis rantai *β-globin* dalam hemoglobin disebut dengan β-thalassemia (Hassan *et al*., 2012). Lebih lanjut lagi, Hassan *et al.* (2012) menyebutkan bahwa kekurangan sintesis *β-globin* ini disebabkan oleh mutasi pada gen *β-globin*. Akibatnya, terjadi presipitasi rantai *α-globin* di dalam sel darah merah yang melebihi normal, sehingga tahap pembentukan eritrosit menjadi tidak optimal.

Penelitian yang dilakukan oleh Rujito (2019) menyatakan bahwa β-thalassemia menunjukkan variasi manifestasi klinis yang lebih beragam

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Deteksi Mutasi IVSI-5 (G>C) Gen Beta-Globin pada Keluarga Pasien Beta-Thalassemia di RSUD Tidar, Kota Magelang
Adifa Brahmantya Darudhita, Prof. Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

dibandingkan dengan α-thalassemia. Kondisi ini diakibatkan karena pada umumnya β-thalassemia terjadi sebab adanya mutasi titik pada gen penyandi *β-globin*. Mutasi tersebut dapat muncul di berbagai posisi, mulai dari bagian hulu (*upstream*) hingga hilir (*downstream*) gen *β-globin*, yang berpotensi mengganggu proses transkripsi maupun translasi. Kelompok gen *β-globin* sendiri terletak pada lengan pendek kromosom nomor 11 (11p.15.5) dengan ukuran sekitar 90 kb. Menurut Thein (2013), proses transkripsi dapat dipengaruhi oleh proses mutasi pada gen *β-globin*. Tahap transkripsi dapat ditemukan pada bagian promoter, 5'UTR, *splice junction consensus splice site, cryptic sites*, sinyal poli A, serta 3'UTR. Sementara itu, proses translasi yang dihambat oleh proses mutasi terjadi pada daerah *coding region*, mutasi akibat *frameshift* (pergeseran rangka baca), maupun *nonsense* (mutasi titik).

β-thalassemia memiliki variasi mutasi yang sangat beragam dan menunjukkan variasi antar etnik. Sampai saat ini, telah teridentifikasi lebih dari 300 jenis mutasi pada gen *β-globin* (Thein, 2013). Dalam buku yang dipublikasi oleh Rujito (2019), sebagian besar kasus β-thalassemia di Indonesia ditemukan adanya mutasi pada bagian ekson-1, intron-1, dan ekson-2. *Intervening Sequence* (IVS) merupakan istilah lain dari intron. Dua jenis mutasi intron yang paling sering dijumpai pada penderita β-thalassemia dari etnis Jawa-Sunda adalah IVSI-1 (G>T) dan IVSI-5 (G>C).

Berbicara dari segi epidemiologis, populasi penderita thalassemia yang juga adalah kelainan genetik menempati jumlah yang cukup besar di seluruh dunia. β-thalassemia banyak ditemukan di wilayah Timur Tengah, Mediterania, Asia Tenggara, Asia Tengah, India, Amerika Selatan, Afrika, dan Cina Selatan. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Galanello & Origa (2010), frekuensi pembawa sifat (*carrier*) thalassemia tertinggi tercatat di Asia Tenggara (45,5%), Cyprus (14%) dan Sardinia (10,3%). Di Indonesia sendiri, tingkat frekuensi *carrier* thalassemia bermacam-macam antar daerah (Rujito, 2019).

Metode analisis molekuler yang umum digunakan untuk mendeteksi eksistensi thalassemia yaitu dengan teknik berbasis *Polymerase Chain Reaction* (PCR), seperti *Restriction Fragment Length Polymorphism-Polymerase Chain Reaction* (RFLP-PCR) dan *Amplification Refractory Mutation System-Polymerase*

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Deteksi Mutasi IVSI-5 (G>C) Gen Beta-Globin pada Keluarga Pasien Beta-Thalassemia di RSUD Tidar, Kota Magelang
Adifa Brahmantya Darudhita, Prof. Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

Chain Reaction (ARMS-PCR) (Rujito, 2019). Selain itu, terdapat pula metode lain yang dapat digunakan untuk mendeteksi mutasi pada pembawa sifat thalassemia, antara lain Tm-*Shift Real-Time Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR), *Tetra-Primer Amplification Refractory Mutation System* (T-ARMS), dan *High Resolution Melting Analysis* (HRMA) (Arif *et al*., 2020; Hidayati *et al*., 2020).

Pada penelitian ini, metode yang digunakan untuk mendeteksi ada atau tidaknya mutasi pada gen yaitu dengan teknik *Amplification Refractory Mutation System* (ARMS). Metode tersebut adalah metode berbasis PCR yang digunakan untuk mendeteksi mutasi pada gen yang melibatkan delesi kecil atau perubahan satu basa nukleotida (Yang *et al*., 2018). Ketika terjadi mutasi pada gen target, primer spesifik akan mengamplifikasi segmen DNA yang mengalami perubahan (Little, 2001). Sekuens DNA dapat dikatakan mengandung alel mutan jika hasil amplifikasi terlebih dahulu menunjukkan keberadaan mutan (Yang *et al*., 2018). Dikarenakan hanya memerlukan primer spesifik untuk target mutasi gen serta elektroforesis sebagai alat visualisasi, dan prosedurnya yang sederhana, menjadikan metode ARMS-PCR banyak dipilih oleh banyak peneliti. ARMS-PCR hingga saat ini menjadi salah satu teknik deteksi paling umum di dunia untuk mengetahui adanya mutasi β-thalassemia (Chaudhary *et al*., 2017; Hanafi *et al.,* 2014). Di Indonesia sendiri, untuk menentukan jenis mutasi β-thalassemia, metode ARMS-PCR banyak diterapkan oleh peneliti, salah satunya yaitu penelitian yang dilakukan oleh Handayani *et al*. (2020) yang berhasil mendeteksi keberadaan mutasi IVSI-5 (G>C) dan IVSI-1 (G>T) pada pembawa β-thalassemia di wilayah Daerah Istimewa Yogyakarta (DIY). Dalam konteks etnis Jawa-Sunda, kedua mutasi tersebut merupakan jenis mutasi gen *β-globin* yang umum ditemukan. Selain itu, penelitian yang dilakukan oleh ‘Ulya *et al.* (2023) juga berhasil mendeteksi banyak variasi mutasi lain. Salah satu mutasi yang dijumpai pada pasien β-thalassemia yang rutin melakukan transufusi darah di RSUD Tidar Kota Magelang yaitu IVSI-5 (G>C).

Oleh karena itu, penelitian lanjutan diperlukan untuk mendeteksi adanya mutasi, khususnya mutasi IVSI-5 (G>C) pada gen *β-globin* dengan subjek anggota keluarga pasien β-Thalassemia di RSUD Tidar, Kota Magelang, yang berfungsi sebagai pusat layanan terpadu dan rumah sakit rujukan bagi penderita thalassemia di wilayah tersebut. Selain itu, dilakukan juga skrining dengan subjek di luar

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Deteksi Mutasi IVSI-5 (G>C) Gen Beta-Globin pada Keluarga Pasien Beta-Thalassemia di RSUD Tidar, Kota Magelang
Adifa Brahmantya Darudhita, Prof. Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

keluarga pasien β-thalassemia dan subjek dengan latar belakang keluarga tanpa riwayat thalassemia.

B. Permasalahan

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, dapat diidentifikasi beberapa permasalahan sebagai berikut:

1. Apakah ditemukan mutasi IVSI-5 (G>C) pada anggota keluarga pasien β-thalassemia di RSUD Tidar Kota Magelang yang diteliti?
2. Bagaimana genotipe dari anggota keluarga pasien β-thalassemia di RSUD Tidar Kota Magelang yang diteliti?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk:

1. Mendeteksi adanya mutasi IVSI-5 (G>C) pada anggota keluarga pasien β-thalassemia di RSUD Tidar Kota Magelang.
2. Mengetahui genotipe dari anggota keluarga pasien β-thalassemia yang diteliti.

D. Manfaat penelitian

Manfaat yang didapat dari penelitian ini yaitu:

1. Dapat mengetahui adanya varian mutasi yang diturunkan dari pasien β-thalassemia di RSUD Tidar Kota Magelang kepada anggota keluarganya.
2. Dapat melakukan tindakan preventif dengan konseling genetik untuk mengetahui arah tujuan reproduksi (menikah/ tidak menikah serta memiliki anak/tidak memiliki anak).

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Deteksi Mutasi IVSI-5 (G>C) Gen Beta-Globin pada Keluarga Pasien Beta-Thalassemia di RSUD Tidar, Kota Magelang
Adifa Brahmantya Darudhita, Prof. Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

BAB II
TINJAUAN PUSTAKA DAN HIPOTESIS

A. Tinjauan Pustaka

1. Darah

Darah adalah salah satu jaringan penting dalam tubuh organisme yang memiliki banyak fungsi. Alur penyebaran darah melewati sistem vaskular yaitu dari jantung mengalir ke seluruh tubuh lalu kembali ke jantung. Kapasitas darah dalam tubuh manusia dapat mencapai 4–5 L (‘Ulya, 2023). Pada umumnya, jaringan darah terdiri dari sel darah (45%) dan plasma darah (55%). Suatu darah dikatakan lengkap apabila memiliki campuran dari berbagai komponen dengan sifat yang beragam, diantaranya adalah kristaloid, koloid, dan elemen seluler. Berdasarkan macamnya, sel darah terdiri atas 3 macam, yaitu fragmen sel (trombosit), sel darah putih (leukosit), dan sel darah merah (eritrosit). Komponen darah mampu dipisahkan oleh metode sentrifugasi karena setiap komponen tersebut mempunyai laju pengendapan, densitas, serta ukuran yang berbeda (Schaller *et al.,* 2008; Basu & Kulkarni, 2014).

Setiap komponen darah mempunyai fungsi yang berbeda-beda. Trombosit berperan dalam proses koagulasi saat terjadi luka, sel darah putih (leukosit) berfungsi sebagai sistem pertahanan melawan patogen yang disebabkan oleh bakteri, jamur, dan virus. Sel darah merah (eritrosit) berfungsi mengangkut oksigen ke seluruh jaringan (Schaller *et al*., 2008). Disamping itu, darah juga memegang peran utama dalam tubuh yaitu membawa nutrien serta zat lain yang dibutuhkan seluruh sel dan mengangkut sisa hasil metabolisme (Rongers, 2011).

2. Eritrosit

Eritrosit atau sel darah merah adalah sel darah yang tidak memiliki inti, berbentuk bulat atau agak oval menyerupai cakram bikonkaf dengan ukuran 7-8µm. Sel tersebut adalah bagian paling besar dari sel-sel di dalam

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Deteksi Mutasi IVSI-5 (G>C) Gen Beta-Globin pada Keluarga Pasien Beta-Thalassemia di RSUD Tidar, Kota Magelang
Adifa Brahmantya Darudhita, Prof. Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

darah dengan jumlah sekitar 4,5 – 5,0 juta sel/mm^3. Hemoglobin yang berfungsi untuk mengikat dan mengangkut oksigen dari paru-paru ke berbagai sel atau jaringan tubuh terkandung di dalam eritrosit (Amalia, 2020). Hemokonsentrasi dapat mengakibatkan tingginya jumlah eritrosit pada individu. Hemokonsentrasi sendiri disebabkan oleh sesak nafas, orang yang tinggal pada dataran tinggi, dehidrasi (kekurangan cairan), luka bakar, dan perokok. Salah satu masalah klinis seperti anemia dapat berkaitan dengan kuantitas eritrosit itu sendiri (Apriliani, 2014).

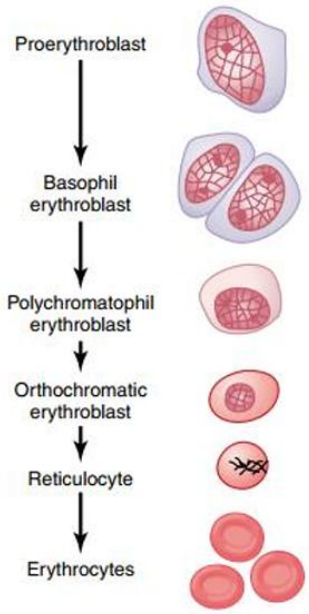
Eritrosit memiliki peran utama yaitu mengangkut oksigen (O_2) dari paru-paru menuju jaringan untuk melakukan metabolisme tubuh, serta dapat mengangkut karbondioksida (CO_2) dari jaringan kembali ke paru-paru. Eritrosit memiliki kapabilitas khusus karena tingginya hemoglobin, kapasitas pembawa oksigen darah dapat berkurang sampai 99% jika tidak ada hemoglobin. Hemoglobin berperan penting untuk mengikat oksigen dan karbondioksida dengan praktis, sehingga oksigen yang langsung terikat dalam paru-paru diangkat oksihemoglobin dalam darah dan akan terurai langsung dari hemoglobin dalam jaringan (Amalia, 2020).

Eritropoeisis merupakan tahapan pembentukan eritrosit yang diatur erat oleh pengaturan umpan balik. Kadar hemoglobin yang diatas normal serta dirangsang oleh keadaan anemia dan hipoksia, dapat menghambat pembentukan eritrosit. Ketika masa awal janin, eritropoiesis berlangsung di dalam *yolk sac*, lalu eritropoiesis bermigrasi ke hati di bulan kehamilan kedua. Eritropoiesis yang berada di hati selanjutnya akan berhenti, serta pusat pembentukan eritrosit berpindah ke sumsum tulang ketika bayi baru lahir (Apriliani, 2014).

Eritrosit adalah sel yang kompleks, bagian dalam sel-nya adalah mekanisme yang mampu menjaga dan mempertahankan sel selama 120 hari, sementara itu membrannya terdiri dari lipid protein. Hormon glikoprotein memiliki peranan untuk mengatur tahapan eritropoiesis dan disebut sebagai eritropoietin yang dihasilkan oleh hati sebesar 15% dan

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Deteksi Mutasi IVSI-5 (G>C) Gen Beta-Globin pada Keluarga Pasien Beta-Thalassemia di RSUD Tidar, Kota Magelang
Adifa Brahmantya Darudhita, Prof. Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

ginjal sebesar 85%. Dalam konteks janin dan neonatus, tahapan eritropoietin dalam darah berlangsung secara bersiklus. Akan tetapi bagi penderita anemia, kadar eritropoietin menampilkan peningkatan yang menetap untuk mengimbangi kekurangan sel darah merah. Pengaturan kadar eritropoeitin ini berkaitan eksklusif oleh kondisi hipoksia (Apriliani, 2014). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Amalia (2020), Kuantitas eritrosit yang normal bergantung pada jenis kelamin dan umur. Pada anak-anak jumlah eritrosit sebanyak 3,5 – 5,5 juta sel/mm^3, pada lelaki sebanyak 4,4 – 5,6 juta sel/mm^3, sedangkan pada wanita sebanyak 3,8 – 5,0 juta sel/mm^3. Proses pembentukan eritropoiesis tertera pada Gambar 1.



Gambar 1. Proses pembentukan eritrosit (Guyton & Hall, 2011)

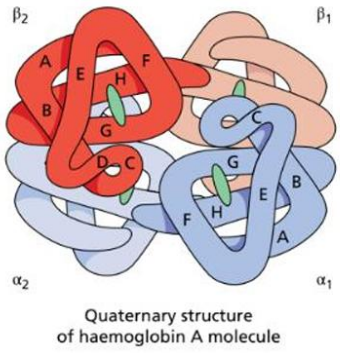
3. Hemoglobin

Hemoglobin atau yang sering disebut sebagai Hb, merupakan protein kompleks yang mempunyai kandungan zat besi (Fe) serta berada di dalam sel eritrosit. Hemoglobin sendiri terdiri atas empat rantai polipeptida (globin), masing-masing dari rantai tersebut terikat pada gugus *heme* dengan cara tertentu, yang kemudian membentuk struktur hemoglobin. Dari segi kepentingan, hemoglobin memiliki peran krusial untuk membawa oksigen (O_2) dari paru-paru ke seluruh jaringan tubuh (Aliviameita &

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Deteksi Mutasi IVSI-5 (G>C) Gen Beta-Globin pada Keluarga Pasien Beta-Thalassemia di RSUD Tidar, Kota Magelang
Adifa Brahmantya Darudhita, Prof. Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

Puspitasari, 2024). Selain untuk mengangkut oksigen, Saha *et al*. (2014) juga menjelaskan bahwa hemoglobin mampu berikatan dengan tiga gas lain seperti nitrogen monoksida (NO), karbon monoksida (CO), dan karbondioksida (CO_2).

Komponen utama untuk membentuk hemoglobin terdiri dari *heme* (kelasi yang terkandung pada besi) yang berfungsi mengikat oksigen, serta protein globulin yang umumnya disebut sebagai globin. Kadar Hb normal untuk lelaki yaitu 14 sampai 18 g/dl; sementara untuk perempuan yaitu 12 sampai 16 g/dl. Empat gugus *heme* yang sama akan terkandung pada setiap molekul, lalu masing-masing dari gugus *heme* tersebut akan terikat pada empat rantai globin (Pardosi, 2025). Keempat rantai ini terdiri atas polipeptida, yang mencakup dua rantai beta juga dua rantai alfa. Empat molekul nitrogen protoporfirin IX serta 4 atom besi (Fe^{2+}) dalam bentuk ferro juga terkandung dalam hemoglobin, yang bekerjasama dengan protoporfirin IX dalam pembentukan empat molekul *heme* (Firdayanti *et al*., 2024). Dikarenakan struktur hemoglobin tersebut, hemoglobin memiliki struktur kuartener seperti yang tertera pada Gambar 2.

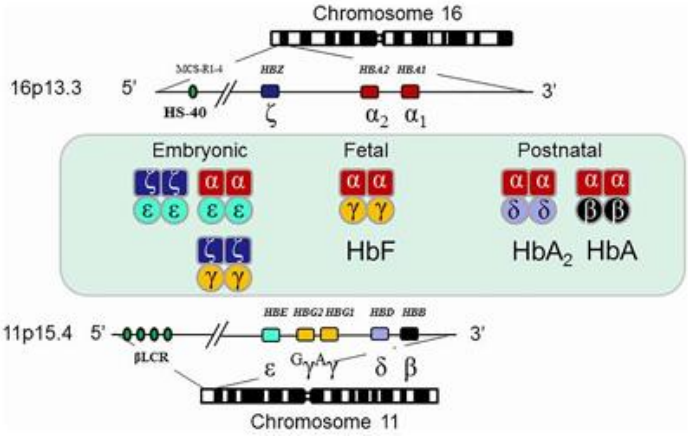


Gambar 2. Struktur kuartener hemoglobin (Bain, 2020)

Protein tetrametrik yang terdapat pada hemoglobin manusia terdiri dari dua rantai *β-globin* dan dua rantai *α-globin*. Gen *globin* tersebut ditata ke dalam dua kelompok gen yang terpisah. Setiap rantai akan membentuk kantong yang berisi kelompok *heme* (kelasi yang terkandung dalam besi) untuk mengikat oksigen. Seperti yang tercantum pada Gambar 3, gen *β-*

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Deteksi Mutasi IVSI-5 (G>C) Gen Beta-Globin pada Keluarga Pasien Beta-Thalassemia di RSUD Tidar, Kota Magelang
Adifa Brahmantya Darudhita, Prof. Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

globin berada pada lengan pendek kromosom 11 sedangkan gen *α-globin* berada pada lengan pendek kromosom 16. Klaster gen *β-globin* berukuran sekitar 90 kb yang terdiri atas dua gen *γ* yang dinotasikan dengan *Gγ* serta *Aγ* (*HBG2* dan *HBG1*), gen *δ* (*HBD*) serta gen *β* (*HBB*), lima gen fungsional gen *ε* (*HBE1*), gen *β* (*HBB*) serta gen *δ* (*HBD*). Terdapat elemen regulator di *downstream* gen *β* dan *βLCR* (*Locus Control Region*) pada bagian *upstream* gen ε, juga terdapat satu gen yang tidak terlihat (*ψβ*) atau dikenal dengan istilah *pseudogene* yang terletak di antara gen *δ* dan *Aγ* (Farashi & Harteveld, 2018; Bain, 2020; Rujito, 2019). Ekspresi gen *globin* diatur dengan elemen pengatur (promoter dan *enhancer*) serta interaksi kompleks dari faktor transkripsi. Tahapan pengaturan berfungsi dalam menonaktifkan serta mengaktifkan gen dalam proses serta jaringan tertentu (Farashi & Harteveld, 2018).



Gambar 3. Posisi kluster gen *β-globin* pada kromosom 11 serta *β-globin* pada kromosom 16 (Farashi & Harteveld, 2018)

Terdapat tiga tipe hemoglobin pada manusia dewasa akibat adanya perubahan struktur hemoglobin seiring dengan perkembangan manusia. Pertama yaitu hemoglobin F (HbF), hemoglobin A (HbA), serta Hemoglobin A2 (HbA2). Sejauh ini, persentase HbF, HbA, serta HbA2 pada manusia dewasa normal diketahui sebesar <1%, 96-98%, serta 2-3%. HbF terdiri dari dua rantai *γ-globin* serta dua rantai *α-globin*, HbA tersusun atas dua rantai *β-globin* serta dua rantai *α-globin* akibatnya membentuk struktur α2β2 pada sebuah tetramer. Setiap rantai *β-globin* mengandung 146

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Deteksi Mutasi IVSI-5 (G>C) Gen Beta-Globin pada Keluarga Pasien Beta-Thalassemia di RSUD Tidar, Kota Magelang
Adifa Brahmantya Darudhita, Prof. Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

asam amino serta 141 asam amino untuk setiap rantai *α-globin*. Sementara itu, HbA2 tersusun dari dua rantai *δ-globin* juga dua rantai *α-globin*. Akan tetapi, konsentrasi yang paling sering ditemukan pada manusia dewasa normal adalah konsentrasi HbA (Hoffbrand & Moss, 2011; Wahed & Dasgupta, 2015). Persentase jenis hemoglobin antara individu normal dan individu dengan riwayat β-thalassemia tercantum pada Tabel 1.

Tabel 1. Persentase jenis hemoglobin pada manusia dengan riwayat β-thalassemia dan manusia dewasa normal (Rujito, 2019)

Kategori	**HbA (%) α2β2**	**HbF (%) α2γ2**	**HbA2 (%) α2δ2**
Normal	96-98	<1	2-3
β-thalassemia homozigot (β^o/β^o)	0	95-98	2-5
β-thalassemia homozigot (β^+/β^+) atau heterozigot (β^o/β^+)	10-30	70-90	2-5
β-thalassemia minor	92-95	0,5-4	≥3,5

Hemoglobinopati merupakan suatu kondisi dimana hemoglobin mengalami kelainan yang ditandai dengan berkurangnya atau tidak adanya sintesis rantai globin. Kondisi tersebut diakibatkan oleh struktur hemoglobin yang mengalami abnormalitas sehingga menghasilkan beberapa macam kelainan hemoglobin. Kapabilitas hemoglobin dalam mengikat oksigen dapat dipengaruhi oleh rantai hemoglobin yang mengalami abnormalitas. Thalassemia, polisitemia, hemolisis, anemia *sickle cell*, dan methemoglobinemia merupakan beberapa penyakit yang disebabkan oleh adanya abnormalitas pada hemoglobin (Hoffbrand & Moss, 2011; Farashi & Harteveld, 2018).

4. Thalassemia

Thalassemia adalah penyakit hemolitik herediter yang diakibatkan oleh defisiensi atau tidak ada sama sekali sintesis rantai globin sebagai pembentuk utama struktur molekul hemoglobin. Kecilnya sintesis rantai globin disebabkan oleh mutasi pada gen *α-globin* maupun *β-globin* (Rujito, 2019; Wahed & Dasgupta, 2015). Menurut Tamam *et al*. (2010) kehadiran

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Deteksi Mutasi IVSI-5 (G>C) Gen Beta-Globin pada Keluarga Pasien Beta-Thalassemia di RSUD Tidar, Kota Magelang
Adifa Brahmantya Darudhita, Prof. Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

distraksi terhadap pembentukan rantai globin mengakibatkan rantai globin menjadi abnormal. Abnormalitas rantai globin ini akan mengakibatkan hemoglobin tidak berperan secara maksimal dalam membawa oksigen ke seluruh jaringan. Situasi tersebut mengakibatkan berbagai gangguan peran jaringan serta organ tubuh.

Sampai saat ini, thalassemia diklasifikasikan menjadi tiga macam berdasarkan gejala klinis serta kebutuhan transfusinya. Tiga macam tersebut yaitu thalassemia minor, intermediet, dan mayor. Thalassemia minor disebut juga sebagai *carrier* atau pembawa mutan. Thalassemia minor tidak menunjukkan tanda-tanda klinis, sehingga tidak membutuhkan transfusi karena sintesis gen *globin* di dalam eritrositnya masih dapat memberikan peran untuk tahapan hematopoiesis (Rujito, 2019).

Thalassemia intermediet mempunyai tanda-tanda yang serupa dengan thalassemia mayor, hanya saja fase keparahan lebih ringan serta transfusi tidak secara berkala. Thalassemia mayor dapat membutuhkan transfusi 2–4 minggu sekali, sementara thalassemia intermediet bisa tiga bulan, enam bulan sekali ataupun setahun sekali. Mayoritas thalassemia intermediet baru dijumpai saat individu sudah beranjak dewasa. Thalassemia mayor adalah situasi klinis thalassemia yang sangat parah sebab membutuhkan transfusi secara berkala serta menunjukkan gejala. Umumnya tanda-tanda awal mulai muncul pada bayi usia tujuh bulan atau setidaknya di bawah usia tiga tahun. Individu dengan Riwayat thalassemia mayor yang telah melaksanakan transfusi secara berkala bisa mengalami perubahan fisik, yaitu kulit lebih gelap sebab adanya peningkatan produksi melanin oleh melanosit. Peingkatan tersebut diakibatkan adanya kelebihan zat besi sehingga kondisi tersebut sering disebut dengan hiperpigmentasi. Gejala lainnya yaitu perut membesar karena pembengkakan hati dan limpa, kelainan pada tulang muka (*facies Cooley*) yang ditandai dengan adanya tonjolan pada dahi, jarak kedua mata melebar, penyimpangan letak gigi dari normalnya (maloklusi gigi), juga pertumbuhan lambat (Rujito, 2019). Tanda awal yang paling sering ditemukan yaitu lemas, bayi mengalami

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Deteksi Mutasi IVSI-5 (G>C) Gen Beta-Globin pada Keluarga Pasien Beta-Thalassemia di RSUD Tidar, Kota Magelang
Adifa Brahmantya Darudhita, Prof. Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

pertumbuhan lambat karena tidak ada gairah untuk menyusu, terlihat pucat pada kulit bagian telapak tangan, kelopak mata bagian dalam, dan daerah perut (Rujito, 2019). Kondisi berikutnya terjadi demam yang berulang-ulang, terjadi pembesaran perut akibat pembesaran limpa dan hati, hingga memiliki masalah pencernaan atau diare (Galanello & Origa, 2010)

Berdasarkan pada gen *globin* yang termutasi, secara genetik thalassemia dibagi menjadi α-thalassemia, β-thalassemia, αβ-thalassemia, δβ-thalassemia, dan δγβ-thalassemia. Penyakit thalassemia yang paling sering ditemukan adalah β-thalassemia dan α-thalassemia (Rujito, 2019). Jikalau mutasi muncul pada gen *β-globin* disebut dengan β-thalassemia, sementara jika mutasi pada gen *α-globin* maka disebut sebagai α-thalassemia (Wahed & Dasgupta, 2015). β-thalassemia merupakan kelainan hemolitik herediter dengan gejala tidak ada atau defisiensi sintesis rantai *β-globin* karena terdapat mutasi gen *β-globin* pada kromosom nomor 11. Kondisi tersebut mengakibatkan ketidakseimbangan produksi hemoglobin, alhasil dapat terjadi hemolisis serta penurunan jumlah eritrosit. β-thalassemia diturunkan kepada anak sebagai sifat autosomal resesif gen *globin* (Galanello & Origa, 2010).

Pada kromosom nomor 16, mutasi gen *α-globin* dapat terjadi. Setiap individu normal mempunyai empat salinan gen *α-globin* pada kromosom tersebut. Mayoritas α-thalassemia diakibatkan oleh delesi dari semua atau hanya salah satu gen *α-globin*. Fase keparahan α-thalassemia ditentukan dari jumlah gen *α-globin* yang mengalami delesi. Akan tetapi, tidak semua α-thalassemia diakibatkan oleh delesi *α-globin*. Hingga saat ini, terdapat empat macam α-thalassemia secara klinis yang dilihat dari jumlah gen α-*globin* yang mendapati mutasi, yaitu HbH *disease,* sindrom *Hydrops Fetalis*, α-thalassemia *trait*, dan *silent carrier* (Marengo-Rowe, 2007).

Menurut Wahed & Dasgupta (2015), baik α-thalassemia maupun β-thalassemia dibedakan menjadi tiga macam berdasarkan total hasil sintesis rantai *β-globin*. Tiga diantaranya yaitu β-thalassemia minor, intermediet,

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Deteksi Mutasi IVSI-5 (G>C) Gen Beta-Globin pada Keluarga Pasien Beta-Thalassemia di RSUD Tidar, Kota Magelang
Adifa Brahmantya Darudhita, Prof. Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

dan mayor. Sintesis rantai *β-globin* mencakup kurangnya sintesis rantai *β-globin* (β^+), atau tidak adanya sintesis rantai *β-globin* (β^o). Pada β-thalassemia minor hanya ditimbulkan oleh satu alel yang termutasi, mengakibatkan hanya disintesis dalam jumlah kurang dari normal atau satu rantai *β-globin* yang tidak disintesis (β^+/β) atau (β^o/β). Pada β-thalassemia intermediet terdapat mutasi pada 2 alel, tetapi terjadi gabungan mutan ringan dan ringan, maupun mutan berat dengan ringan. Dengan demikian sintesis rantai *β-globin* dapat dilambangkan dengan (β^+/β^+) atau (β^o/β^+). Mutasi yang terjadi pada β-thalassemia mayor diakibatkan adanya mutasi pada kedua alel sehingga menyebabkan gangguan kronis pada sintesis rantai *β-globin* (β^o/β^o). Lebih lanjut, menurut Nienhuis & Nathan (2012), thalassemia mayor dan intermediet dapat dikatakan dengan homozigot. Tetapi, β-thalassemia mayor bisa dikatakan *double-heterozygous* dikarenakan mayoritas pasien β-thalassemia mayor memiliki 2 jenis mutasi pada gen *β-globin*. Situasi ini diketahui memiliki indikasi klinis yang serupa dengan homozigot yaitu membutuhkan transfusi secara berkala. Pada pasien dengan penyakit β-thalassemia, *double heterozygous* juga dapat terdeteksi. Sementara itu, thalassemia minor dapat dikatakan dengan heterozigot yang tidak bergejala klinis atau memiliki gejala anemia ringan (Tamam *et al.,* 2010).

Perkara β-thalassemia cukup menjadi atensi dunia sebab penyebarannya yang meluas serta jumlah penderita bertambah banyak. Negara yang mempunyai prevalensi perkara β-thalassemia cukup tinggi diantaranya yaitu negara-negara Asia Tenggara, Asia Tengah, Timur Tengah, negara di sepanjang pantai utara Afrika, India, Mediterania, India, Amerika Serikat, dan Cina Selatan. Sementara frekuensi penderita thalassemia minor (*carrier*) yaitu Asia Tenggara, Sardinia (10,3%), dan Cyprus (14%) (Galanello & Origa, 2010). Situasi ini semakin meluas karena tingginya migrasi penduduk di berbagai dunia serta adanya perkawinan antar kelompok etnis yang berbeda. Data yang diperoleh dari *World Health Organization* (WHO) memprediksikan 7% dari penduduk global merupakan pembawa sifat β-thalassemia serta mayoritas dijumpai di negara

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Deteksi Mutasi IVSI-5 (G>C) Gen Beta-Globin pada Keluarga Pasien Beta-Thalassemia di RSUD Tidar, Kota Magelang
Adifa Brahmantya Darudhita, Prof. Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

berkembang. Di Indonesia sendiri penyakit thalassemia yang paling banyak ditemukan yaitu HbE/β-thalassemia (Rujito, 2019). Lebih lanjut, Rujito (2019) melaporkan prevalensi individu pembawa gen (*carrier*) HbE/β-thalassemia yaitu sebanyak 3-10% yang tersebar di berbagai daerah.

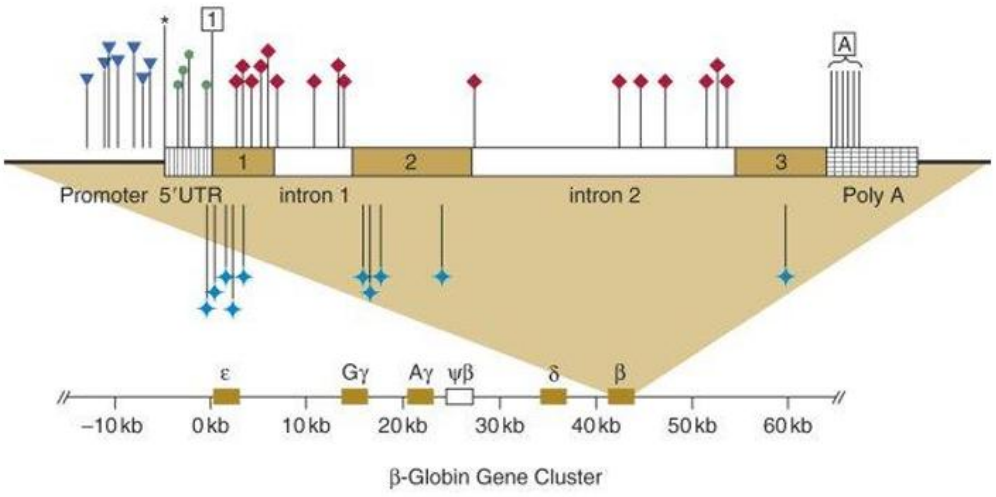
Tiga tahapan utama dalam diagnosis thalassemia yaitu pemeriksaan hematologis, analisis kuantitatif hemoglobin, dan pemeriksaan genetik. Pemeriksaan hematologis mencakup pengukuran kadar hemoglobin, jumlah total eritrosit, hematokrit, MCHC, MCV, MCH, serta evaluasi apusan darah tepi. Analisis yang digunakan untuk menentukan tipe thalassemia yaitu dengan analisis kuantitatif. Analisis tersebut dapat mengetahui tipenya berdasarkan persentase HbF, HbA, dan HbA_2. Apabila sampel menunjukkan indikasi thalassemia, pemeriksaan lanjutan berupa analisis genetik atau molekuler dapat dilakukan untuk mengidentifikasi lokasi serta jenis mutasi penyebabnya (Rujito, 2019). Penelitian yang dilakukan oleh ‘Ulya *et al*. (2023) telah melaksanakan tiga tahapan diagnosis thalassemia terhadap pasien β-thalassemia yang rutin melakukan transfusi darah di RSUD Tidar Kota Magelang.

Secara umum, β-thalassemia diakibatkan karena mutasi yang dijumpai pada gen *β-globin*. Tipe mutasi yang paling banyak ditemukan pada β-thalassemia yaitu mutasi titik (*point mutation*). Tetapi, tidak sedikit juga yang diakibatkan dari mutasi yang membentuk *frameshift mutation* serta kodon *stop* (*nonsense mutation*). Mutan yang menyebabkan terganggunya sintesis *β-globin* dapat diklasifikasikan menjadi 4 macam yaitu mutan promoter, RNA *splicing site*, RNA *capping/tailing*, serta mutan translasi (‘Ulya, 2022).

Mutasi/perubahan pada β-thalassemia memiliki bermacam jenis pada setiap etnik. Di Indonesia sendiri mayoritas mutasi β-thalassemia terjadi pada bagian intron-1, ekson-1, serta ekson-2. Struktur gen *β-globin* terdiri dari tiga ekson dan diintervensi oleh dua intron. Ekson yang pertama terbentuk atas 30 kodon, dilanjutkan intron pertama berlokasi di tengah-

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Deteksi Mutasi IVSI-5 (G>C) Gen Beta-Globin pada Keluarga Pasien Beta-Thalassemia di RSUD Tidar, Kota Magelang
Adifa Brahmantya Darudhita, Prof. Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

tengah kodon 30 dan 31. Kemudian ekson kedua adalah ekson yang paling panjang dimulai dari kodon 31 hingga 104. Intron kedua berada di antara kodon 104 dan 105, lalu ekson terakhir yaitu ekson ketiga dimulai dari kodon 105 sampai 146 (Rujito, 2019). Posisi mutasi pada β-thalassemia bermacam-macam mulai dari promoter sampai *poly* A pada gen *β-globin*, dan tercantum pada Gambar 4.



Gambar 4. Posisi mutasi pada gen *β-globin* (Rujito, 2019).

Mutasi pada intron dapat dikatakan juga *Intervening Sequence* (IVS). Yang membedakan adalah IVS merupakan istilah lama sedangkan intron merupakan istilah yang lebih baru. Beberapa tipe mutasi di bagian intron yang paling sering ditemui pada β-thalassemia etnik Jawa-Sunda yaitu pada IVSI-1 (G>T), IVSI-2 (T>C) , dan IVSI-5 (G>C) (Rujito, 2019). Mutasi IVSI-5 (G>C) timbul akibat adanya pergantian transversi basa dari G (Guanin) menjadi C (Sitosin) pada intron ke-1 nukleotida ke-5 gen *β-globin*, sedangkan mutasi IVSI-1 (G>T) dapat timbul akibat pergantian transversi basa G (Guanin) menjadi T (Timin) pada intron ke-1 nukleotida ke-1 gen *β-globin* (Treisman *et al*., 1983). Menurut keterangan dari Handayani *et al.* (2020), kedua jenis mutasi tersebut adalah *splice-site mutations*. *Splicing mutation* secara garis besar mengacu pada *point mutation* di sekuens konsensus *cis.* Hal tersebut dapat memengaruhi ketidakakuratan rekognisi intron juga ekson pada mRNA alhasil

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Deteksi Mutasi IVSI-5 (G>C) Gen Beta-Globin pada Keluarga Pasien Beta-Thalassemia di RSUD Tidar, Kota Magelang
Adifa Brahmantya Darudhita, Prof. Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

menimbulkan generasi transkripsi yang menyimpang. Elemen *cis* merupakan sekuens DNA yang mempertimbangkan intron, ekson, dan sekuens regulator lain yang akurat serta dibutuhkan pada saat tahapan *RNA splicing*. *Splicing mutation* dapat terjadi pada ekson ataupun intron serta menghambat *splice site*. *cryptic site* dapat teraktivasi akibat dari mutasi tersebut (Anna & Monika, 2018). *Cryptic site* adalah *splice site* yang tidak terdeteksi dalam *wild-type pre-mRNA* namun akan terbentuk atau aktif saat mutasi terdapat pada *splice site*. Dalam *HBB* atau gen *β-globin*, terdapat tiga *cryptic site* yang dapat diaktifkan saat terjadi *splice-site mutations* (Roca *et al*., 2003). Posisi mutasi IVSI-5 pada gen *β-globin* tertera pada Gambar 5 yang diakses melalui situs *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) dengan *accession number* yaitu NC_000011.



Gambar 5. Letak mutasi IVSI-5 pada gen *β-globin*
Keterangan : Warna Kuning = Ekson-1; Warna Hijau = Ekson-2; Warna biru = Ekson-3; Warna Merah = Mutasi IVSI-5 (G>C)

5. Thalassemia di Jawa Tengah

Menurut keterangan dari Yayasan Thalassemia Indonesia (YTI), Frekuensi penderita thalassemia di Indonesia sampai Juni 2021 menunjukkan angka yang signifikan yaitu 10,973 kasus thalasemia. Kasus

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Deteksi Mutasi IVSI-5 (G>C) Gen Beta-Globin pada Keluarga Pasien Beta-Thalassemia di RSUD Tidar, Kota Magelang
Adifa Brahmantya Darudhita, Prof. Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

tersebut naik sebesar 122% dari sebelumnya 4.896 kasus pada tahun 2012. Penyakit thalassemia telah ditemukan sekitar lima jiwa dari setiap 10.000 natalitas di seluruh dunia. Asia menempati prevalensi kejadian paling tinggi sebesar 40% (Adiratna *et al*., 2020). Tingginya jumlah penderita thalassemia di Indonesia sudah terdistribusi di berbagai daerah dengan prevalensi yang beragam (Rujito, 2019). Lebih lanjut, Adiratna *et al*. (2020) mengatakan bahwa dari data Yayasan Thalassemia Indonesia, jumlah persentase thalassemia di Jawa Tengah tercatat hingga 15,4% dari seluruh penyandang di seluruh Indonesia. Menurut penelitian yang telah dilaksanakan oleh Rujito *et al*. (2015) mengenai *Molecular Scanning* β-thalassemia di Jawa Tengah, tepatnya di Banyumas, penelitian tersebut menjumpai alel-alel mutasi β-thalassemia yang sering ditemukan pada populasi Jawa yaitu Cd26 (28,2%), Cd35 (2,4%), IVSI-1 (G>T) (3,1%), IVSI-1 (G>A) (5,0%), dan terbesar yaitu IVSI-5 (43,5%). Di samping itu, penelitian yang telah dilaksanakan oleh Tamam *et al*. (2010) di Kota Semarang, jenis mutasi yang terdeteksi pada pasien β-thalassemia adalah mutasi Cd26/IVSI-5 (*double-heterozygous*) sebesar 55,3%, IVSI-5/ IVSI-5 (13,2%), Cd26/ Cd35 (*double-heterozygous*) sebesar 13,2%, serta Cd26/ IVSI-1 (*double-heterozygous*) sebesar 7,9%.

Penelitian yang dilakukan oleh ’Ulya *et al*. (2023) telah berhasil mendeteksi mutasi yang terdapat 61 pasien β-thalassemia di RSUD Tidar Kota Magelang. Dari penelitian yang telah dilakukan, ditemukan 12 varian genotipe. Genotipe yang paling sering dijumpai pada pasien β-thalassemia di RSUD Tidar diantaranya yaitu Cd26/ IVSI-5 (47,54%), Cd26/ Cd35 (16,30%), dan Cd26/ IVSI-1 (11,47%). Penelitian tersebut juga menjumpai tiga genotipe baru yang sebelumnya belum pernah diumumkan ada di Indonesia, yaitu homozigot Cd35, IVSI-5 (G>C)/ Cd40, dan Cd26/ Cd30. Secara keseluruhan, prevalensi alel mutan *β-globin* yang terdapat pada pasien β-thalassemia di RSUD Tidar tertera pada Tabel 2 dengan Cd26 menempati posisi prevalensi tertinggi yaitu sebesar 83,60% sementara Cap+1 menempati posisi prevalensi terendah yaitu sebesar 1,63%.

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Deteksi Mutasi IVSI-5 (G>C) Gen Beta-Globin pada Keluarga Pasien Beta-Thalassemia di RSUD Tidar, Kota Magelang
Adifa Brahmantya Darudhita, Prof. Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

Tabel 2. Prevalensi alel mutan *β-globin* pada pasien β-thalassemia di RSUD Tidar (’Ulya *et al*., 2023)

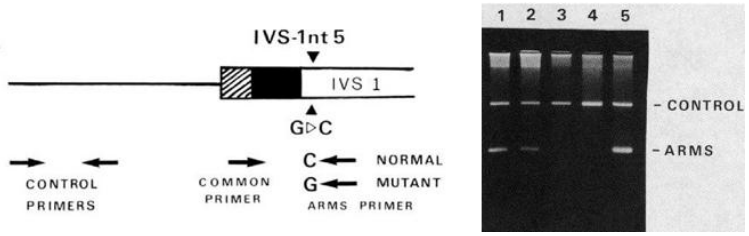
Alel Mutan	Frekuensi	Prevalensi (%)
Cd26	51	83,60
Cd35	11	18,03
Cd40	2	3,27
Cd30	1	1,63
Cd15	1	1,63
IVSI-5 (G>C)	37	60,65
IVSI-1 (G>T)	8	13,11
IVSI-1 (G>A)	1	1,63
IVSI-2	3	4,91
Cap + 1	1	1,63

6. *Amplification Refractory Mutation System* (ARMS)

Teknik *Amplification Refractory Mutation System* (ARMS-PCR) diperkenalkan pertama kali oleh Newton *et al*. pada tahun 1989, yang merupakan suatu teknik berbasis PCR dengan fungsi untuk mendeteksi eksistensi mutasi pada suatu gen (‘Ulya, 2022). Metode ARMS-PCR dikenal juga sebagai *Allele-Specific Polymerase Chain Reaction* (ASPCR) dikarenakan basisnya pada penggunaan primer spesifik. Keberadaan mutasi pada suatu gen target akan diamplifikasi oleh primer spesifik (Little, 2001). Teknik ARMS-PCR mampu mendeteksi jenis mutasi titik (*point mutation*) yang mencakup delesi kecil suatu gen maupun perubahan basa nukleotida tunggal pada sekuens DNA (Yang *et al*., 2018). Sekuens DNA akan memiliki alel mutan apabila keberadaan mutan yang diamplifikasi tersebut mampu dideteksi (Yang *et al*., 2018). Menurut ‘Ulya (2022), selain primer untuk mendeteksi mutan spesifik, metode ARMS-PCR juga memerlukan primer *common* dan satu pasang primer kontrol internal. Primer kontrol internal akan menjadi indikator ketepatan penempelan primer ARMS, sedangkan primer *common* memiliki peranan sebagai pasangan primer mutan. Proses amplifikasi perlu dilakukan pengulangan jikalau kontrol internal tidak tampak. Oleh karena-nya, berhasil atau tidaknya proses ARMS-PCR dibuktikan dengan keberadaan pita DNA kontrol internal pada hasil elektroforesis yang divisualisasikan oleh *Gel-Doc*.

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Deteksi Mutasi IVSI-5 (G>C) Gen Beta-Globin pada Keluarga Pasien Beta-Thalassemia di RSUD Tidar, Kota Magelang
Adifa Brahmantya Darudhita, Prof. Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

Hingga saat ini, ARMS-PCR menjadi teknik deteksi paling umum tidak hanya di Indonesia, tetapi di dunia untuk mengidentifikasi mutasi titik (*point mutation*) pada β-thalassemia. Sampai sekarang pun penggunaan teknik ARMS-PCR sudah berkembang pesat karena prosesnya praktis, hanya memerlukan primer spesifik untuk target mutasi gen, serta elektroforesis sebagai alat visualisasi (Hanafi *et al*., 2014). Posisi primer untuk ARMS-PCR tertera pada Gambar 6.



Gambar 6. Posisi primer ARMS-PCR (Old, 1991)

B. Hipotesis

Hipotesis penelitian ini dapat dirumuskan sebagai berikut:

1. Terdeteksi adanya mutasi IVSI-5 (G>C) pada anggota keluarga pasien β-thalassemia di RSUD Tidar Kota Magelang yang diteliti.
2. Ditemukan genotipe heterozigot/*carrier* pada anggota keluarga pasien β-thalassemia di RSUD Tidar Kota Magelang yang diteliti.

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Deteksi Mutasi IVSI-5 (G>C) Gen Beta-Globin pada Keluarga Pasien Beta-Thalassemia di RSUD Tidar, Kota Magelang
Adifa Brahmantya Darudhita, Prof. Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dimulai pada bulan Juni 2025 di Kota Magelang untuk pengambilan sampel saliva dan sampel *swab* keluarga pasien kemudian dilanjutkan pada bulan September-November 2025 di Laboratorium Genetika dan Pemuliaan Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada untuk menguji adanya mutasi. Melalui persetujuan dari Komisi Etik Ref. No.:KE/FK/1289/EC/2021., penelitian ini dapat dilaksanakan dengan baik serta memenuhi prosedur yang berlaku.

B. Subjek Penelitian

Subjek penelitian dalam penelitian ini adalah anggota keluarga dari pasien β-thalassemia yang rutin melakukan transfusi darah di RSUD Tidar Kota Magelang yang diklasifikasikan melalui kriteria inklusi serta eksklusi sebagai berikut:

1. Kriteria Inklusi Subjek Penelitian
   a) Anggota keluarga dari pasien β-thalassemia yang pernah terdeteksi mutasi IVSI-5 (G>C) di RSUD Tidar Kota Magelang sebanyak dua subjek.
   b) Subjek lain diluar (a.) yang bersedia mengikuti skrining.
2. Kriteria Eksklusi Subjek Penelitian
   a) Subjek yang membatalkan kesediannya untuk menjadi responden penelitian.

Subjek yang diteliti berjumlah 26 subjek dengan laki-laki sebanyak delapan subjek dan perempuan sebanyak 18 subjek yang tertera pada Tabel 3. Kode sampel yang diberi kode ‘GN’ merupakan anggota keluarga dari pasien β-thalassemia yang rutin melakukan transufusi darah, kode sampel ‘AA’ merupakan subjek lain (di luar anggota keluarga pasien) yang bersedia mengikuti skrining. Sementara itu, kode sampel ‘K’ merupakan subjek dengan latar belakang keluarga

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Deteksi Mutasi IVSI-5 (G>C) Gen Beta-Globin pada Keluarga Pasien Beta-Thalassemia di RSUD Tidar, Kota Magelang
Adifa Brahmantya Darudhita, Prof. Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

tanpa riwayat thalassemia. Pada penelitian ini digunakan juga dua sampel DNA kontrol sebagai pembanding, yaitu kontrol positif (GN 45) dan kontrol negatif (GN 112).

Tabel 3. Subjek keluarga pasien β-thalassemia di RSUD Tidar yang diteliti

Kode Sampel	Jenis Kelamin	Kode Sampel	Jenis Kelamin
GN 112/29	L	AA4/5	P
GN 113/32	P	AA10	P
GN 117/51	P	K1	L
AA6/GN108	P	K2	P
GN 89/53	P	K3	P
AA2/2	P	K4	L
GN 108/45	P	K5	P
GN 89/16	L	K6	P
GN 89/17	L	K7	P
GN 104/54	L	K8	P
GN 117/52	P	AA2/3	P
GN 89/58	L	AA3/4	L
AA7	P	AA1	P

C. Bahan dan Alat

1. Bahan

Bahan-Bahan yang digunakan pada penelitian ini meliputi 24 sampel saliva, dan dua sampel *buccal swab* dari keluarga pasien β-thalassemia di RSUD Tidar Kota Magelang yang memenuhi kriteria inklusi. Proses pengambilan saliva/*swab* digunakan Saliva *collection* kit (NEST, China), *Buccal swab* kit (COPAN), *tube* sampel saliva dan sampel *swab*. Bahan yang digunakan untuk ekstraksi DNA yaitu Geneaid Genomic DNA Mini Kit (*elution buffer*, *wash buffer,* W1 *buffer,* GSB *buffer*)*, ethanol absolute sprayer*, proteinase K, lalu digunakan juga *ethanol absolute* 90%. Disamping itu, untuk tahap ARMS-PCR, 2X MyTaqTM HS Red Mix (Bioline, Philadelpia, Pennsylvania), kemudian digunakan primer spesifik yang tertera pada Tabel 4, *pipette tip*, *nuclease free*

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Deteksi Mutasi IVSI-5 (G>C) Gen Beta-Globin pada Keluarga Pasien Beta-Thalassemia di RSUD Tidar, Kota Magelang
Adifa Brahmantya Darudhita, Prof. Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

water (NFW/ddH2O), dan *tube* PCR. Selanjutnya untuk elektroforesis, digunakan *gel* 1%, DNA *ladder* 100 bp (Geneaid), *gel* 0.8%, *loading dye* (BIOLINE), parafilm, DNA *ladder* 1 kb (SMOBIO), *fluorosafe* DNA *stain*, dan terakhir yaitu *buffer* Tris-acetat-EDTA (TAE) 1X.

Tabel 4. Primer yang digunakan pada ARMS-PCR (Old *et al*., 2012)

Jenis Primer	Sekuens Primer	Ukuran Produk
Mutasi IVSI-5 (G>C)	CTC CTT AAA CCT GTC TTG TAA CCT TGT TAG	285 bp
Common B	ACC TCA CCC TGT GGA GCC AC	
Kontrol D	GAG TCA AGG CTG AGA GAT GCA GGA	861 bp
Kontrol E	CAA TGT ATC ATG CCT CTT TGC ACC	

Keterangan: Primer D dan E adalah kontrol internal untuk semua varian mutasi β-Thalassemia. Primer *common* B merupakan pasangan primer untuk varian mutasi IVSI-5.

2. Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini mencakup berbagai instrumen laboratorium dengan fungsi spesifik. *Heat block* digunakan untuk menjaga kestabilan suhu pada sampel, neraca analitik berfungsi menimbang bahan dengan presisi tinggi, sementara lemari pendingin digunakan untuk menyimpan bahan yang memerlukan suhu rendah. Selanjutnya, *Spin down* (Wealtec) juga digunakan untuk proses homogenisasi, *centrifuge* berfungsi memisahkan larutan atau bahan berdasarkan perbedaan berat jenisnya, lalu *vortex* berfungsi untuk menghomogenkan larutan, dan Spektrofotometer (Maestrogen Nano) dimanfaatkan guna mengukur konsentrasi serta rasio absorbansi sampel. Rangkaian alat elektroforesis (MUPID-eXU) digunakan untuk memisahkan komponen berdasarkan muatan listrik yang termigrasi dalam medan listrik. Dalam proses PCR, alat *Thermocycler* (Bio-Rad T100) berperan dalam proses amplifikasi DNA, *Microwave* (Sharp) digunakan untuk memanaskan larutan selama proses pembuatan *gel agarose*. Selain itu, cetakan *gel* dan *comb* digunakan untuk membentuk *gel agarose*, kamera digunakan untuk mendokumentasikan kegiatan penelitian, serta *micropipette* (Eppendorf) digunakan untuk mengambil sampel saliva/*swab* dan bahan lain dalam volume mikroliter, dan terakhir yaitu sistem

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Deteksi Mutasi IVSI-5 (G>C) Gen Beta-Globin pada Keluarga Pasien Beta-Thalassemia di RSUD Tidar, Kota Magelang
Adifa Brahmantya Darudhita, Prof. Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

dokumentasi *gel (Gel Doc UV Transilluminator*) yang digunakan untuk memvisualisasikan pita DNA.

D. Cara Kerja

1. Koleksi Sampel

Sampel saliva dan *swab* dikoleksi mengikuti protokol saliva *collection* kit (NEST, China) serta *buccal swab* kit (COPAN). Sampel Saliva sebanyak 24 sampel didapatkan dari masing-masing subjek sebanyak 3 mL, kemudian ditampung pada *tube* dan ditambahkan larutan *buffer.* Sampel *swab* sebanyak dua sampel didapatkan dari subjek yang belum dapat mengeluarkan saliva secara mandiri, yaitu subjek dengan kode sampel GN 117/52 (< 5 tahun) dan subjek dengan kode sampel GN 89/58 (< 1 tahun). Hasil dari *swab* tersebut selanjutnya ditampung pada *tube* dan ditambahkan larutan *buffer*. Setelah seluruh sampel terkoleksi, dilanjutkan dengan menyimpan sampel di dalam lemari pendingin dengan suhu 4ºC.

2. Ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA dilakukan berdasarkan panduan gSYNC^{TM} DNA *Extraction Kit for Blood protocol procedure* dari Geneaid.

a. Preparasi Sampel dan Pelisisan Sel

Proses ekstraksi DNA dimulai dengan preparasi seluruh sampel saliva/*swab* yang akan diekstraksi kemudian dilakukan pelisisan sel. pelisisan sel diawali dengan homogenisasi sampel saliva/*swab* menggunakan *vortex*, setelah itu sampel sebanyak 200 µL dimasukkan ke dalam *tube microcentrifuge* berkapasitas 1,5 mL serta diberi label. Pemberian label dilakukan untuk setiap sampel yang telah dimasukkan. Tahap berikutnya yaitu ditambahkan 40 µL proteinase K dan dihomogenkan kembali dengan *vortex*. Selanjutnya, *heat block* disiapkan dengan mengatur suhu sebesar 60°C lalu seluruh sampel dimasukkan untuk proses inkubasi selama 5 menit. Setelah proses inkuhbasi selesai, sampel ditambahkan 200 µL GSB *buffer*. Campuran tersebut kembali dihomogenkan menggunakan *vortex* serta diinkubasi lagi pada suhu 60°C

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Deteksi Mutasi IVSI-5 (G>C) Gen Beta-Globin pada Keluarga Pasien Beta-Thalassemia di RSUD Tidar, Kota Magelang
Adifa Brahmantya Darudhita, Prof. Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

selama 5 menit, lalu setiap 2 menit sekali sampel dikeluarkan sebentar untuk diinversi. Selagi menunggu proses inkubasi, *elution buffer* sebanyak 100 µL/sampel dimasukkan ke dalam *tube microcentrifuge* berkapasitas 1,5 mL dan dimasukkan ke dalam *heat block* untuk digunakan pada tahap elusi DNA.

b. Pengikatan DNA

Setelah proses inkubasi selesai, ke dalam sampel ditambahkan 200 µL *absolute ethanol* dingin, kemudian dihomogenisasi menggunakan *vortex* selama 3-5 detik. Selanjutnya, GS *column* dipindahkan ke dalam *collection tube* yang berukuran 2 mL lalu sampel dimasukkan ke dalam GS *column*. Proses berikutnya yaitu memasukkan sampel ke dalam mesin sentrifugasi untuk dilakukan sentrifugasi pada kecepatan 15.000 rpm dengan tekanan 6 atm selama 1 menit. Setelah itu, cairan yang berada pada *collection tube* dibuang, lalu GS *column* dipindahkan ke dalam *collection tube* yang baru.

c. Pencucian DNA

Tahapan dilanjutkan dengan dengan menambahkan 400 µL W1 *buffer* ke dalam GS *column* yang sudah terpasang di *collection tube* baru, kemudian dilakukan sentrifugasi selama 1 menit. Setelah sentrifugasi selesai, cairan pada *collection tube* dibuang, lalu ke dalam GS *column* ditambahkan 600 µL *wash buffer*. Proses sentrifugasi dilakukan kembali selama 1 menit dan cairan yang terdapat pada *tube* kembali dibuang. Proses terakhir dari tahap ini yaitu dilakukan pengeringan matriks *column* dengan cara sentrifugasi selama 3 menit.

d. Pengelusian DNA

Setelah proses pengeringan selesai dilakukan, proses dilanjutkan dengan menyiapkan *microtube* 1,5 mL yang baru dan diberi label kemudian GS *column* dipindahkan ke dalam *microtube*. Setelah itu, *elution buffer* yang telah diinkubasi sebelumnya pada suhu 60°C, ditambahkan sebanyak 50 µL. Proses berikutnya yaitu diinkubasi pada suhu ruang selama 5 menit, kemudian dilakukan sentrifugasi selama 1 menit. Tahapan elusi ini diulang

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Deteksi Mutasi IVSI-5 (G>C) Gen Beta-Globin pada Keluarga Pasien Beta-Thalassemia di RSUD Tidar, Kota Magelang
Adifa Brahmantya Darudhita, Prof. Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

sekali lagi, sehingga volume akhir sampel DNA hasil ekstraksi menjadi 100 µL.

3. Kuantifikasi DNA

Sampel DNA hasil ekstraksi selanjutnya dikarakterisasi secara kuantitatif melalui proses spektrofotometri yang merupakan proses pengukuran dengan cakupan nilai absorbansi serta penentuan konsentrasi DNA-nya. Spektrofotometri tersebut menggunakan alat Spektrofotometer Maestrogen Nano. Dalam proses pengujian kuantifikasi DNA, digunakan 2 µL *elution buffer* sebagai blanko. Tahapan diawali dengan *Elution buffer* yang diteteskan pada sensor spektrofotometer untuk kalibrasi, lalu dibersihkan sebelum digunakan untuk pengukuran sampel DNA. Selanjutnya, 2 µL DNA dimasukkan dan diuji satu per satu. Hasil pengukuran ditampilkan pada monitor spektrofotometer yang menunjukkan rasio absorbansi pada panjang gelombang 260/280 nm, serta dalam bentuk konsentrasi DNA (ng/µL).

4. Elektroforesis DNA Genom

Seluruh sampel yang telah melewati kuantifikasi DNA, kemudian dianalisis melalui proses elektroforesis (MUPID-eXU) dan hasilnya divisualisasikan menggunakan *Gel-Doc*. Proses elektroforesis ini dilakukan secara dua kali dengan 2 mesin yang berbeda sehingga seluruh sampel dapat ter-*running* bersama. *Gel agarose* dengan konsentrasi 0,8% untuk elektroforator pertama disiapkan dengan menimbang 0,32 gram bubuk *agarose* dan 0,8% *gel agarose* untuk elektroforator kedua disiapakan untuk menimbang 0,4 gram bubuk *agarose*. kemudian dicampurkan hingga homogen dengan 40 mL larutan TAE 1X (elektoroforator pertama) dan 50 mL larutan TAE 1X (elektroforator kedua). Setelah itu, proses dilanjutkan dengan mengatur tegangan sebesar 100 volt dan waktu yang diatur untuk kedua elektrofator yaitu selama 30 menit (Lampiran 1). Setelah proses elektroforesis selesai, *gel agarose* tersebut divisualisasikan menggunakan alat *Gel-Doc*.

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Deteksi Mutasi IVSI-5 (G>C) Gen Beta-Globin pada Keluarga Pasien Beta-Thalassemia di RSUD Tidar, Kota Magelang
Adifa Brahmantya Darudhita, Prof. Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

5. Amplifikasi dengan *Amplification Refractory Mutation System* (ARMS-PCR)

Hasil ekstraksi DNA dari tahapan ketiga kemudian diamplifikasi menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) yang dilakukan dengan metode *Amplification Refractory Mutation System* (ARMS) menggunakan 2X MyTaqTM HS Red Mix (Bioline, Philadelpia, Pennsylvania). Pembuatan komposisi master mix PCR merupakan tahap awal untuk amplifikasi dengan membuat komposisi master mix PCR tersebut sebanyak 25 µL untuk setiap reaksi. Seluruh komposisi master mix PCR dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Komposisi reagen PCR untuk reaksi ARMS-PCR

No.	Komponen	Volume	Konsentrasi
1	Bioline	12,5 µL	
2	Primer *common* B	0,625 µL	0,5 µM
3	Primer kontrol D	0,625 µL	0,5 µM
4	Primer kontrol E	0,625 µL	0,5 µM
5	Primer mutan IVSI-5	0,625 µL	0,5 µM
6	*Nuclease free water* (ddH_20)	7 µL	
7	DNA sampel	3 µL	6,1–148,9 ng/µL

Tahap selanjutnya yaitu master mix PCR yang telah berisi komponen pada Tabel 5 (kecuali DNA sampel) di*vortex* dan dimasukkan ke dalam *spin down* untuk homogenisasi. Kemudian seluruh komponen tersebut dimasukkan ke dalam PCR *tube* dan ditambahkan DNA sampel. Lalu PCR *tube* tersebut kembali di*vortex* serta di*spin down*. Setelah itu, mesin *thermocycler* yang akan digunakan untuk ARMS-PCR diatur kondisi nya sehingga waktu *running* dan pengaturan suhu nya dapat sesuai dengan apa yang diinginkan. Pengaturan mesin untuk ARMS-PCR tercantum pada Tabel 6.

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Deteksi Mutasi IVSI-5 (G>C) Gen Beta-Globin pada Keluarga Pasien Beta-Thalassemia di RSUD Tidar, Kota Magelang
Adifa Brahmantya Darudhita, Prof. Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

Tabel 6. Pengaturan *thermocycler* untuk ARMS-PCR (‘Ulya, 2022)

No.	Reaksi	Suhu	Waktu	
1	Pre-Denaturasi	95ºC	2 menit	
2	Denaturasi	95ºC	15 detik	35x siklus
3	*Annealing*	65ºC	30 detik	
4	Elongasi	72 ºC	30 detik	
5	Post-Elongasi	72ºC	3 menit	
6	*Cooling*	10ºC		

6. Elektroforesis *Gel Agarose* dan Visualisasi Pita DNA

Seluruh sampel yang telah melewati rangkaian ARMS-PCR, kemudian dianalisis melalui proses elektroforesis (MUPID-eXU) dan hasilnya divisualisasikan menggunakan *Gel-Doc*. Proses elektroforesis ini dilakukan secara dua kali dengan dua mesin yang berbeda sehingga seluruh sampel dapat ter-*running* bersama. *Gel agarose* dengan konsentrasi 1% untuk elektroforator pertama disiapkan dengan menimbang 0,4 gram bubuk *agarose* dan 1% *gel agarose* untuk elektroforator kedua disiapakan untuk menimbang 0,5 gram bubuk *agarose*. kemudian dicampurkan hingga homogen dengan 40 mL larutan TAE 1X (elektoroforator pertama) dan 50 mL larutan TAE 1X (elektroforator kedua). Setelah itu, proses dilanjutkan dengan mengatur tegangan sebesar 100 volt dan waktu yang diatur untuk kedua elektrofator yaitu selama 30 menit (Lampiran 2). Setelah proses elektroforesis selesai, gel *agarose* tersebut divisualisasikan menggunakan alat *Gel-Doc*.

E. Analisis Data

Analisis hasil dilakukan setelah serangkaian proses ARMS-PCR telah selesai dilaksanakan. Seluruh sampel kemudian dianalisis secara kuantitatif menggunakan metode spektrofotometri melalui Spektrofotometer Maestrogen Nano untuk melihat besarnya konsentrasi DNA yang didapat. Setelah itu, untuk mendeteksi mutasi IVSI-5 (G>C) dilakukan analisis molekular yang dilakukan secara kualitatif dengan cara membandingkan dan menginterpretasi pola pita yang didapat dari hasil elektroforesis yang divisualisasikan dengan *Gel-Doc*. Jikalau

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Deteksi Mutasi IVSI-5 (G>C) Gen Beta-Globin pada Keluarga Pasien Beta-Thalassemia di RSUD Tidar, Kota Magelang
Adifa Brahmantya Darudhita, Prof. Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

amplikon sampel menghasilkan fragmen dengan ukuran sebesar 861 bp dan 285 bp (*basepair*), maka varian mutasi IVSI-5 (G>C) terdapat di amplikon tersebut. Analisis juga dilakukan dengan membuat *pedigree* keluarga pasien β-thalassemia yang diteliti menggunakan *software* CeGat *Pedigree* Chart Designer. *Pedigree* yang dibuat yaitu *pedigree* keluarga yang terindikasi membawa mutasi IVSI-5 (G>C) dari orang-tuanya, dengan tujuan untuk melihat awal mula penyebarannya serta sebagai dasar dalam konseling genetik. Melalui *Pedigree* tersebut, dilakukan analisis lanjutan untuk mendeteksi mutasi Cd26 menggunakan metode RFLP-PCR pada subjek yang diteliti, yang seluruh prosedur dan tahapan deteksi tersebut dilakukan pada penelitian lain.

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Deteksi Mutasi IVSI-5 (G>C) Gen Beta-Globin pada Keluarga Pasien Beta-Thalassemia di RSUD Tidar, Kota Magelang
Adifa Brahmantya Darudhita, Prof. Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Ekstraksi DNA

Hasil ekstraksi sampel saliva sebanyak 24 sampel dan sampel *swab* sebanyak dua sampel pada keluarga pasien β-thalassemia di RSUD Tidar Kota Magelang diuji secara kuantitatif melalui teknik spektrofotometri. Hasil pengujian spektrofotometri tercantum pada Tabel 7. Berdasarkan hasil tersebut, sampel AA1 memiliki konsentrasi DNA paling tinggi, sementara sampel K8 memiliki konsentrasi DNA terendah. Seluruh konsentrasi DNA dari ke-26 sampel yang diuji didapatkan cakupan konsentrasi sebesar 6,1–148,9 ng/µL.

Tabel 7. Konsentrasi dan rasio absorbansi DNA berdasarkan spektrofotometri

Kode Sampel	Konsentrasi (ng/µL)	Rasio A260/A280	Kode Sampel	Konsentrasi (ng/µL)	Rasio A260/A280
GN 112/29	72,8	1,89	AA4/5	45,6	1,77
GN 113/32	66,7	1,91	AA10	33,8	1,78
GN 117/51	23,5	1,81	K1	41,6	1,73
AA6/GN108	90,5	1,83	K2	25,3	1,76
GN 89/53	31,9	1,89	K3	108,8	1,88
AA2/2	83,4	1,73	K4	24,1	1,72
GN 108/45	73,3	1,87	K5	52,9	1,77
GN 89/16	26	1,97	K6	20,7	1,98
GN 89/17	23,1	1,87	K7	25,1	1,93
GN 104/54	70,4	1,90	K8	6,1	1,62
GN 117/52	64,9	1,59	AA2/3	76,1	1,97
GN 89/58	6,5	1,46	AA3/4	46,8	1,91
AA7	135,1	1,86	AA1	148,9	1,86

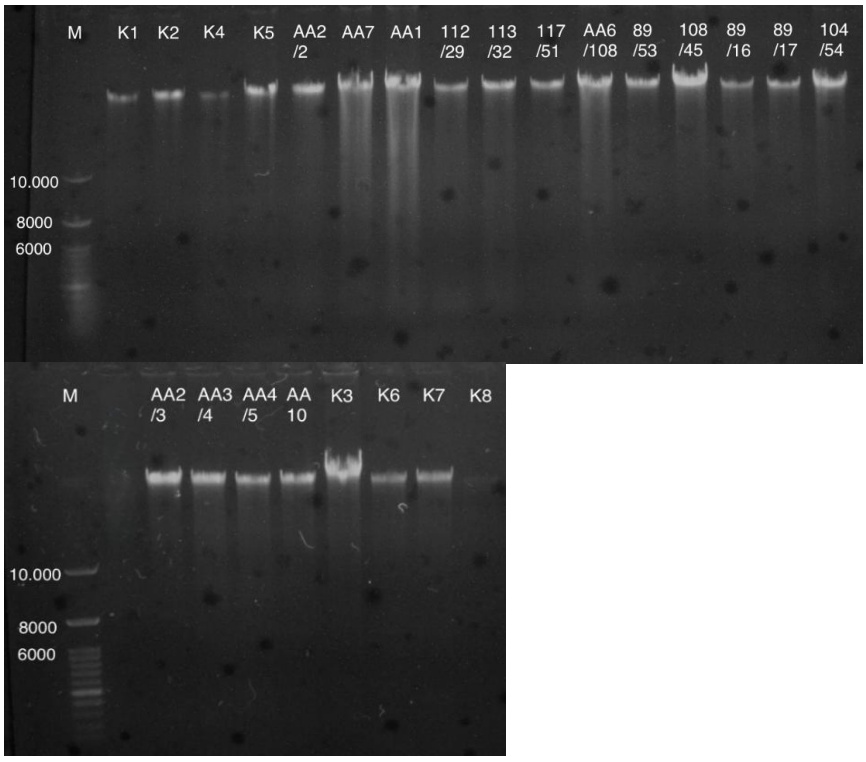
Berdasarkan hasil yang diperoleh pada Tabel 7, sampel yang memiliki rasio absorbansi 260/280 terendah adalah GN 89/58, sedangkan sampel K6 memiliki rasio absorbansi A260/280 tertinggi. Secara garis besar menurut ‘Ulya (2022), rasio kemurnian DNA absorbansi A260/280 mempunyai panjang sekitar 1,8–2,0 nm. Publikasi oleh Burns *et al.* (2020) mengatakan bahwa sampel akan mengandung

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Deteksi Mutasi IVSI-5 (G>C) Gen Beta-Globin pada Keluarga Pasien Beta-Thalassemia di RSUD Tidar, Kota Magelang
Adifa Brahmantya Darudhita, Prof. Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

kontaminan berupa RNA jikalau kemurnian sampel DNA memiliki rasio absorbansi A260/280 lebih dari 1,8 nm. Sementara itu, sampel DNA dapat diindikasikan terkontaminasi oleh protein jika rasio absorbansi kurang dari rentang nilai tersebut (‘Ulya, 2022). Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, beberapa sampel memiliki rasio absorbansi A260/280 di bawah rentang normal dan beberapa sampel dengan rentang normal. Hal tersebut menunjukkan bahwa sampel hasil isolasi tersebut terkontaminasi oleh protein. Dikarenakan proses amplifikasi ARMS-PCR tidak menggunakan enzim *reverse transcriptase*, sehingga apabila seluruh sampel terkontaminasi karena RNA maupun karena protein, tidak akan memengaruhi proses aplifikasi ARMS-PCR (‘Ulya, 2022).

B. Elektroforesis DNA Genom

Setelah pengujian kuantifikasi DNA, tahapan dilanjutkan dengan pengujian elektroforesis DNA genom dari seluruh sampel sebelum disiapkan untuk tahapan ARMS-PCR. Hasil Elektroforesis tersebut selanjutnya divisualisasikan dengan *Gel-Doc* yang tercantum pada Gambar 7.



Gambar 7. Visualisasi elektroforesis DNA genom
Keterangan: M = *Marker* DNA *ladder* 1 kb.

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Deteksi Mutasi IVSI-5 (G>C) Gen Beta-Globin pada Keluarga Pasien Beta-Thalassemia di RSUD Tidar, Kota Magelang
Adifa Brahmantya Darudhita, Prof. Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

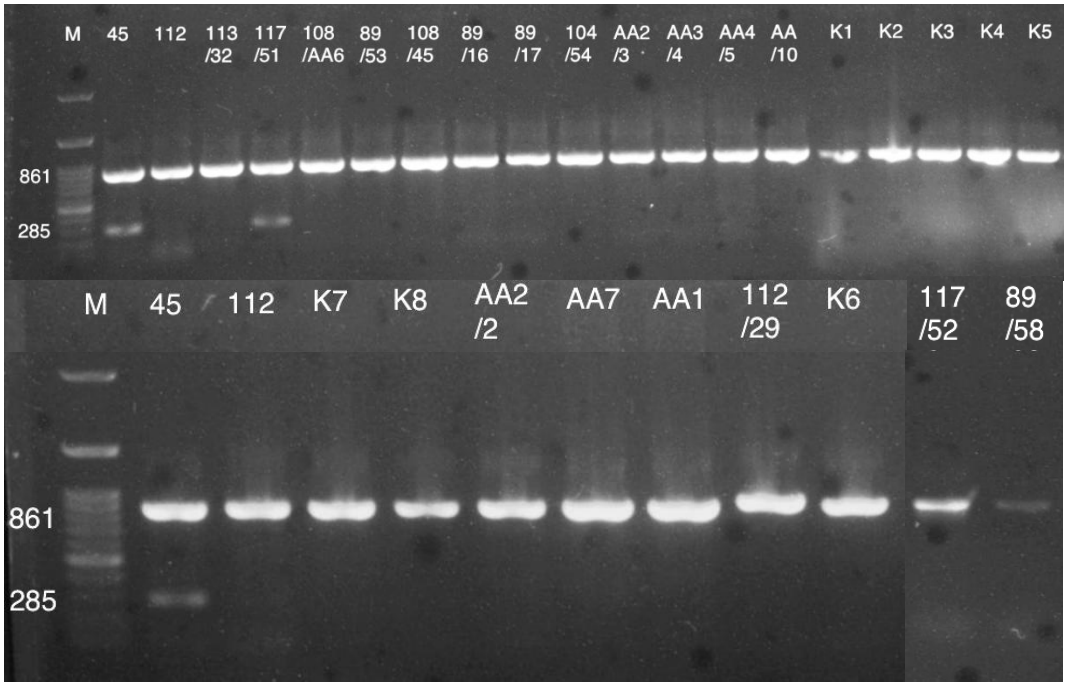
Dalam pengujian ini, elektroforesis DNA Genom bertujuan untuk memahami kualitas DNA yang diperoleh. Keberhasilan ekstraksi DNA dapat diketahui dengan melihat fragmen DNA yang tampak pada *gel*. Pita DNA yang mengumpul (tidak menyebar) serta tebal menunjukkan DNA total yang diekstrak dalam kondisi murni dan juga konsentrasi yang tinggi. Di sisi lain, adanya ikatan antar molekul DNA yang terputus pada saat proses ekstraksi berlangsung akan menunjukkan pita DNA yang terlihat menyebar akhirnya mengakibatkan genom DNA terpotong menjadi bagian-bagian yang lebih kecil. Adanya gerakan fisik yang berlebihan juga dapat mengakibatkan terputusnya ikatan antar molekul tersebut. Gerakan fisik ini dapat terjadi pada saat sentrifugasi, saat proses pemipetan, atau bahkan sebab aktivitas bahan bahan kimia tertentu dan juga karena terlalu tingginya temperatur (Harahap, 2017).

Berdasarkan hasil yang diperoleh pada Gambar 7, seluruh sampel menunjukkan pita DNA yang tebal, berwarna terang serta memiliki ukuran lebih dari 10.000 bp, sehingga dapat disimpulkan bahwa kualitas DNA yang diekstraksi tersebut sudah bagus dan sesuai dengan teori dari Harahap (2017). Akan tetapi, terdapat satu sampel dengan kode K8 yang tidak menunjukkan keberadaan pita DNA yang tebal serta warna dari pita tersebut pun tidak nampak. Berdasarkan keterangan dari Tabel 7, Kode sampel K8 merupakan sampel dengan konsentrasi DNA terendah yaitu sebesar 6,1 ng/µL. Rendahnya konsentrasi tersebut sesuai dengan teori dari Haris *et al*. (2003) yang mengatakan kualitas fragmen hasil amplifikasi akan dipengaruhi oleh konsentrasi DNA, konsentrasi DNA yang terlalu tinggi akan mengakibatkan fragmen terlihat tebal akhirnya fragmen yang satu dengan fragmen lainnya akan sulit dibedakan. Sementara itu, konsentrasi DNA yang terlalu rendah akan berdampak pada fragmen yang sangat tipis pada *gel* atau bahkan tidak terlihat secara visual. Meskipun begitu, K8 merupakan sampel yang berasal dari subjek dengan latar belakang keluarga tanpa riwayat thalassemia, sehingga tidak menjadi fokus utama pada penelitian ini.

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Deteksi Mutasi IVSI-5 (G>C) Gen Beta-Globin pada Keluarga Pasien Beta-Thalassemia di RSUD Tidar, Kota Magelang
Adifa Brahmantya Darudhita, Prof. Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

C. Deteksi Mutasi IVSI-5 (G>C)

Hasil deteksi mutasi IVSI-5 (G>C) pada penelitian ini dapat dilihat melalui eksistensi dari pita DNA hasil elektroforesis yang terlihat. Hasil visualisasi mutasi IVSI-5 (G>C) tertera pada Gambar 8.



Gambar 8. Elektroforesis hasil ARMS-PCR mutasi IVSI-5 (G>C) Keterangan: M = *Marker* DNA *ladder* 100 bp; 45 = kontrol positif; 112 = kontrol negatif; 117/51 = sampel terdeteksi mutasi IVSI-5 (G>C); 285 bp menampilkan pita DNA mutan; 861 bp menampilkan pita DNA kontrol internal.

Mutasi IVSI-5 (G>C) adalah mutasi pada intron pertama, urutan nukleotida ke-5 gen pengkode *β-globin* yang sering dijumpai di Suku Jawa. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Thein *et al*. (1990) pada diagnosis prenatal β-thalassemia di Thailand, yang menyatakan bahwa mutasi IVSI-5 (G>C) termasuk dalam mutasi yang umum ditemukan pada pasien β-thalassemia Malay, Indian, dan Asian, hasil penelitiannya di Thailand pun menunjukkan hasil demikian. Teori tersebut kembali didukung oleh Rujito (2019) dalam bukunya yang berjudul ”Talasemia: Genetik Dasar dan Pengelolaaan Terkini”, yang menyampaikan bahwa penelitian β-thalassemia di Indonesia yang dilakukan oleh Lie-Injo *et al.* (1989), jenis mutasi IVSI-5 (G>C) adalah jenis mutasi yang paling sering dijumpai sebesar 54%, dilanjutkan oleh Cd26 sebesar 18%. Daerah Istimewa Yogyakarta (DIY) sendiri, berdasarkan keterangan dari Hidayati *et al.* (2020), dijumpai populasi

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Deteksi Mutasi IVSI-5 (G>C) Gen Beta-Globin pada Keluarga Pasien Beta-Thalassemia di RSUD Tidar, Kota Magelang
Adifa Brahmantya Darudhita, Prof. Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

sebanyak 50% mutasi IVSI-5 (G>C) pada *carrier* β-thalassemia dari total sampel yang diuji. Penelitian yang dilakukan oleh 'Ulya *et al*. (2023), telah berhasil mengidentifikasi varian mutasi pada pasien β-thalassemia yang rutin melaksanakan transfusi darah di RSUD Tidar, Kota Magelang. Hasil yang diperoleh yaitu mutasi Cd26 merupakan mutasi dengan prevalensi tertinggi sebesar 83,60%, diikuti dengan mutasi IVSI-5 (G>C) sebesar 60,65%. Penelitian tersebut juga menjumpai adanya fenomena *compound mutation* (*double-heterozygous*) pada pasien pasien β-thalassemia di RSUD Tidar dengan kombinasi mutasi yang tak beraturan. *compound mutation* tertinggi yang dijumpai yaitu mutasi Cd26/ IVSI-5 (G>C) sebesar 47,54%, lalu diikuti oleh mutasi Cd26/ Cd35 sebesar 16,30%, serta Cd26/ IVSI-1 sebesar 11,47%.

Pada penelitian ini, mayoritas sampel yang diambil menggunakan sampel saliva dan tidak menggunakan sampel darah. Saliva adalah cairan tubuh manusia yang mampu dijadikan *biomarker* untuk mengidentifikasi berbagai masalah kesehatan manusia, dalam hal ini yaitu mendeteksi adanya thalassemia. Ilmu forensik, penyakit menular, penyakit sistemik telah memakai saliva sebagai sampel dalam banyak penelitian (Nur & Yamamoto, 2022). Penggunaan saliva untuk sampel biologi sangat praktis dan efisien dibandingkan dengan biopsi jaringan, *buccal swab*, serta darah. Sampel ekstraksi DNA yang menggunakan saliva memiliki banyak kelebihan dibandingkan pemakaian darah, hal ini dikarenakan saliva tidak bersifat invasif. Komponen DNA yang terkandung dalam sampel darah memang lebih banyak (6-73 µg/mL), tetapi baik secara kuantitas maupun kualitas sampel saliva masih satu tingkat dengan darah untuk ekstraksi DNA (Nur & Yamamoto, 2022).

Pengambilan sampel saliva merupakan tindakan alternatif bagi subjek yang memiliki trauma terhadap jarum suntik. Sifat pengambilan saliva yang tidak invasif membuat subjek lebih nyaman sehingga memudahkan petugas dalam proses pengambilan sampel (Nur & Yamamoto, 2022). Lebih lanjut, kelebihan lain pemakai saliva sebagai sampel diagnostik yaitu dapat stabil selama satu minggu pada suhu 4°C dan stabil selama 24 jam dalam suhu kamar. Saliva tidak terdenaturasi sehingga mampu dikumpulkan secara berulang (lebih dari sekali

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Deteksi Mutasi IVSI-5 (G>C) Gen Beta-Globin pada Keluarga Pasien Beta-Thalassemia di RSUD Tidar, Kota Magelang
Adifa Brahmantya Darudhita, Prof. Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

dalam sehari) tanpa menyakiti subjek. Pengumpulan secara berulang juga memudahkan petugas jika akan dilakukan pengulangan pemeriksaan (Chojnowska *et al*., 2018).

Berdasarkan hasil elektroforesis yang tertera pada Gambar 8 dari 24 sampel saliva dan dua sampel *swab* pasien β-thalassemia yang dideteksi, dijumpai adanya mutasi IVSI-5 (G>C) pada gen pengkode *β-globin* sebanyak satu sampel, yaitu pada sampel GN 117/51. Sampel negatif (GN 112) dan positif (GN 45) terhadap mutasi IVSI-5 (G>C) digunakan untuk kontrol eksternal sebagai pembanding pada teknik ARMS-PCR. Hasil dari proses ARMS-PCR telah terlaksana secara tepat ditandai dengan melihat keberadaan amplikon kontrol internal melalui fragmen yang berukuran 861 bp. Kemudian dengan melihat keberadaan pita DNA pada 285 bp, deteksi mutasi pada metode ARMS-PCR dapat diketahui (’Ulya, 2022).

D. *Pedigree* Keluarga Pasien β-Thalassemia

Pada penelitian ini, dilakukan pembuatan *pedigree* keluarga dari pasien β-thalassemia yang rutin melaksanakan transfusi darah di RSUD Tidar, Kota Magelang dan terkonfirmasi mutasi IVSI-5 (G>C). Pembuatan *pedigree* keluarga penting dilakukan untuk mengetahui riwayat penyebaran penyakit genetik yang pernah dialami oleh anggota keluarga sebelumnya. Pemahaman mengenai *Pedigree* juga berperan sebagai langkah awal untuk melakukan tindakan preventif sehingga resiko ke depan dapat diatasi dengan baik (Wattendorf & Hadley, 2005). Dalam penelitian ini, pembuatan *pedigree* keluarga dengan riwayat thalassemia penting dilakukan karena dapat menjadi dasar dalam konseling genetik.

Berdasarkan *pedigree* yang telah dibuat, penelitian ini berfokus pada anggota keluarga dari pasien β-thalassemia yang sudah terkonfirmasi positif mutasi IVSI-5 (G>C) pada penelitian yang dilakukan oleh ‘Ulya pada tahun 2022. Berdasarkan skrining yang dilakukan oleh ‘Ulya *et al*. (2023) pada tahun 2022, pasien tersebut merupakan pasien dengan riwayat thalassemia mayor yang membawa *compound mutation* dalam dirinya yaitu mutasi Cd26/ IVSI-5 (G>C). Pasien tersebut diberi kode sampel GN 117 yang juga merupakan anak sulung dalam keluarganya. Adik keduanya (GN 45) juga merupakan pasien thalassemia

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Deteksi Mutasi IVSI-5 (G>C) Gen Beta-Globin pada Keluarga Pasien Beta-Thalassemia di RSUD Tidar, Kota Magelang
Adifa Brahmantya Darudhita, Prof. Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

mayor yang sudah terkonfirmasi membawa mutasi ganda seperti GN 117. Sementara itu, anggota keluarga terakhir dalam keluarga tersebut yaitu III.4, belum diketahui apakah pembawa thalassemia/*carrier* atau bukan. Hal tersebut karena berdasarkan keterangan dari GN 117 sendiri, III.4 dalam riwayat hidupnya belum pernah menunjukkan gejala thalassemia seperti yang dialami oleh GN 117 dan GN 45. Berdasarkan informasi dari GN 117 juga diketahui III.4 masih mengenyam pendidikan di bangku Sekolah Menengah Pertama (SMP) kelas 9. Pemeriksaan hematologis dan indeks korpuskular pada GN 117 sebelumnya telah dilakukan oleh ‘Ulya pada tahun 2022, dan tertera pada Tabel 8 dan Tabel 9.

Tabel 8. Kondisi hematologis pasien β-thalassemia di RSUD Tidar Kota Magelang

Kode	Jenis Kelamin	Usia (Tahun)	Mutasi	Hb (g/dL)	RBC (10^6/µL)	Hct (%)
GN 117	P	28	Cd26/ IVSI-5	6,1*	2,8*	18,4*

Keterangan : (*) di bawah nilai rujukan; Hct = hematokrit; RBC= eritrosit

Tabel 9. Indeks korpuskular pasien β-thalassemia di RSUD Tidar Kota Magelang

Kode	Jenis Kelamin	Usia (Tahun)	Mutasi	MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (g/dL)
GN 117	P	28	Cd26/ IVSI-5	64,8*	21,5*	33,1

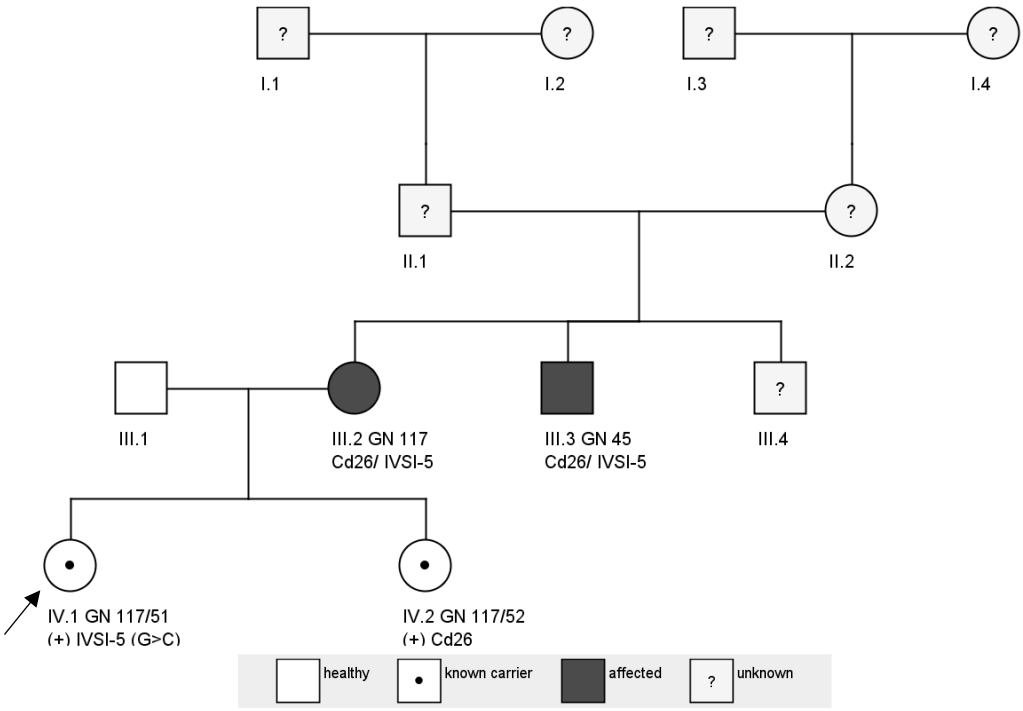
Keterangan : (*) di bawah nilai rujukan

Berdasarkan Tabel 8, dapat diketahui bahwa GN 117 memikiki kondisi hematologis yang berada di bawah nilai rujukan (Lampiran 3), sedangkan pada Tabel 9, indeks korpuskular yang terdapat pada GN 117 seperti MCV dan MCH masih berada di bawah nilai rujukan (Lampiran 4). Varian mutasi yang terdapat pada β-thalassemia tidak memengaruhi nilai RBC, persentase hematokrit, dan kadar hemoglobin, melainkan dipengaruhi oleh tingkat keparahan klinis β-thalassemia yang didasari pembentukan rantai *β-globin* yaitu β^{++}(*silent*), β^{+} (*mild*), dan β^{o} (*severe*) (Thein, 2013).

Dikarenakan GN 117 merupakan individu dengan riwayat β-thalassemia mayor, Hal tersebut sudah sesuai dengan teori dari ‘Ulya (2022) yang memaparkan bahwa terjadi penurunan MCV serta MCH pada individu dengan riwayat β-

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Deteksi Mutasi IVSI-5 (G>C) Gen Beta-Globin pada Keluarga Pasien Beta-Thalassemia di RSUD Tidar, Kota Magelang
Adifa Brahmantya Darudhita, Prof. Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

thalassemia mayor, akan tetapi nilai MCHC tidak terlalu berpengaruh dalam indikator kelainan β-thalassemia. Nilai MCV dan MCH yang mengalami penurunan ini diakibatkan oleh kadar hemoglobin dan RBC yang rendah. Sementara itu, usia maupun jenis kelamin tidak berpengaruh pada nilai MCV dan MCH. *Pedigree* keluarga pasien β-thalassemia dapat dilihat pada Gambar 9.

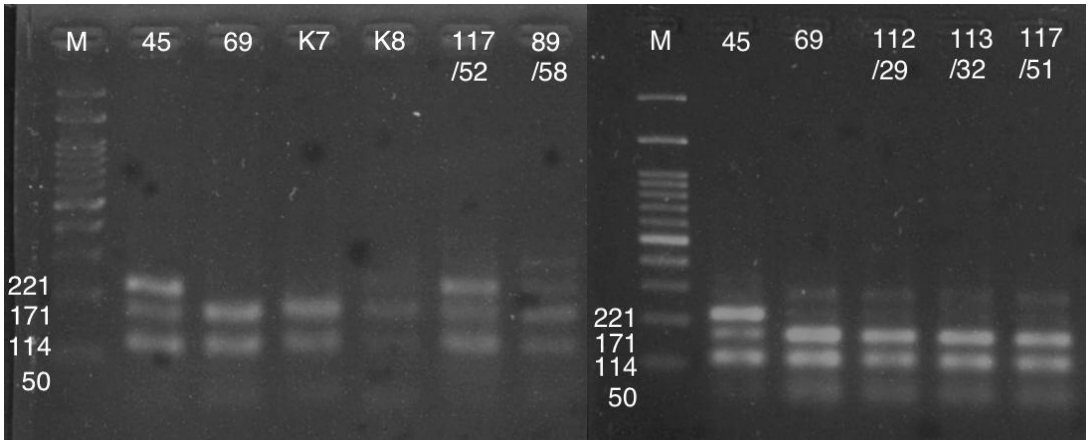


Gambar 9. *Pedigree* keluarga dari pasien β-thalassemia dengan mutasi IVSI-5 (G>C)

GN 117 sendiri telah menikah dengan seorang pria yang diberi kode III.1 dan diketahui bahwa suaminya tersebut merupakan pria normal yang tidak memiliki riwayat thalassemia. Dari pernikahan tersebut, GN 117 dan III.1 memiliki dua orang anak perempuan yang diberi kode GN 117/51 dan GN 117/52. Berdasarkan hasil elektroforesis pada Gambar 7, GN 117/51 menunjukkan hasil positif untuk mutasi IVSI-5 (G>C), sementara adiknya yaitu GN 117/52 menunjukkan hasil yang negatif. Dikarenakan GN 117 membawa *compound mutation* Cd26/ IVSI-5 (G>C), sehingga pemeriksaan dilanjutkan pada penelitian lain dengan melakukan PCR untuk mengetahui adanya mutasi Cd26 pada GN 117/51 dan GN 117/52. Terdapat sedikit perbedaan pada saat pemeriksaan Cd26, metode PCR yang dipakai bukan menggunakan ARMS seperti mutasi IVSI-5, melainkan menggunakan metode RFLP-PCR (*Restriction Fragment Length Polymorphism-Polymerase Chain*

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Deteksi Mutasi IVSI-5 (G>C) Gen Beta-Globin pada Keluarga Pasien Beta-Thalassemia di RSUD Tidar, Kota Magelang
Adifa Brahmantya Darudhita, Prof. Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

Reaction) (Arumdapta, 2026). Hasil elektroforesis untuk mutasi Cd26 tertera pada Gambar 10.



Gambar 10. Elektroforesis hasil RFLP-PCR mutasi Cd26
Keterangan: M = *Marker* DNA *ladder* 100 bp; 45 = kontrol positif; 69 = kontrol negatif; 117/52 = sampel terdeteksi mutasi Cd26.

Berdasarkan visualisasi elektroforesis untuk mutasi Cd26, hasil menunjukkan bahwa GN 117/52 yang merupakan anak bungsu dari GN 117 terkonfirmasi positif membawa mutasi Cd26, sementara kakak kandung-nya yaitu GN 117/51 menunjukkan hasil negatif. Menurut Jannah (2014), empat fragmen berukuran 221 bp, 171 bp, 114 bp, dan 50 bp akan nampak pada amplikon individu *carrier*/heterozigot. Dua fragmen berukuran 221 bp dan 114 bp hanya akan ditunjukkan oleh individu yang mempunyai genotip Cd26 homozigot, sementara tiga fragmen dengan ukuran 171 bp, 114 bp, dan 50 bp akan nampak pada amplikon individu normal (Indrawati, 2022). Dari elektrogram tersebut, sampel GN 117/51 sudah sesuai dengan teori karena menunjukkan pita DNA dengan ukuran 171 bp, 114 bp, dan 50 bp sehingga dapat dikatakan sampel tersebut negatif untuk mutasi Cd26. Sedangkan untuk sampel GN 117/52 hasil juga sudah sesuai dengan teori karena menunjukkan pita DNA dengan ukuran 221 bp, 171 bp, 114 bp, dan 50 bp. Meskipun fragmen 50 bp yang terlihat sangat tipis, tetap dapat dikatakan sampel tersebut positif heterozigot/*carrier* untuk mutasi Cd26.

Melalui pembuatan *pedigree* yang tercantum pada Gambar 10, dapat diperoleh informasi bahwa pasangan GN 117 yang membawa mutasi ganda Cd26/ IVSI-5 dengan III.1 yang merupakan individu normal, tidak mewariskan seluruh mutasi ganda tersebut kepada kedua anaknya yaitu GN 117/51 dan GN 117/52.

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Deteksi Mutasi IVSI-5 (G>C) Gen Beta-Globin pada Keluarga Pasien Beta-Thalassemia di RSUD Tidar, Kota Magelang
Adifa Brahmantya Darudhita, Prof. Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

Akan tetapi, GN 117 mewariskan salah satu mutasi tersebut kepada masing-masing anaknya, GN 117/51 diwariskan mutasi IVSI-5 (G>C) dan GN 117/52 diwariskan mutasi Cd26. Sehingga dapat dikatakan GN 117/51 dan GN 117/52 keduanya merupakan pembawa mutasi dengan genotipe heterozigot/*carrier*. Penelitian ini berhasil mendeteksi sedari dini mutasi yang dimiliki oleh GN 117/51 dan GN 117/52 yang dapat membantu dalam pelaksanaan konseling genetik di kemudian hari.

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Deteksi Mutasi IVSI-5 (G>C) Gen Beta-Globin pada Keluarga Pasien Beta-Thalassemia di RSUD Tidar, Kota Magelang
Adifa Brahmantya Darudhita, Prof. Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, diperoleh hasil yang dapat disimpulkan bahwa:

1. Mutasi IVSI-5 (G>C) dapat dideteksi pada keluarga pasien β-thalassemia di RSUD Tidar Kota Magelang menggunakan sampel saliva dan *swab*.
2. Subjek dengan kode sampel GN 117/51 memiliki genotipe heterozigot/*carrier* yang membawa mutasi IVSI-5 (G>C).

B. Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilaksanakan, saya selaku penulis ingin memberikan saran supaya ada proses penelitian lebih lanjut yang dilakukan pada sampel saliva/*swab* keluarga pasien β-thalassemia di RSUD Tidar Kota Magelang yang tidak terdeteksi oleh mutasi IVSI-5, sehingga perlu ditindak lanjuti untuk dilakukan deteksi pada mutasi lain. Saran selanjutnya yaitu diperlukan edukasi terus-menerus mengenai thalassemia kepada saudara dekat pasien β-thalassemia supaya segera sadar skrining, karena banyak yang belum serius mengikuti skrining pada pemeriksaan yang telah dilaksanakan.

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Deteksi Mutasi IVSI-5 (G>C) Gen Beta-Globin pada Keluarga Pasien Beta-Thalassemia di RSUD Tidar, Kota Magelang
Adifa Brahmantya Darudhita, Prof. Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

DAFTAR PUSTAKA

Adiratna, W., A. Udiyono, & L. D. Saraswati. 2020. Hubungan pengetahuan dan dukungan sosial terhadap skor kepatuhan minum obat kelasi besi pada pasien thalassemia. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*. 8(1):23–30.

Aliviameita, A. and Puspitasari, P., 2024. Pemeriksaan Hematologi Rutin. *Umsida Press*, pp.1-96.

Amalia, R.A., 2020. *Perbedaan Hasil Hitung Jumlah Eritrosit Menggunakan Larutan Hayem dan Larutan Gower* (*Doctoral dissertation*, Universitas Muhammadiyah Semarang).

Anna, A. & G. Monika. 2018. Splicing mutations in human genetic disorders: examples, detection, and confirmation. *Journal of Applied Genetics*. 59(3): 253–268.

Apriliani, Indah Nur. 2014. *Hitung Jumlah Eritrosit Pada Pekerja Penambang Batu Kapur di Tegal* (Thesis, Fakultas Ilmu Keperawatan Dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah, Semarang).

Arif, A. A., A. D. An-Nizamiya, C. Putri, M. Nashrurrokhman, N. Husna, Mulyati, S. Hadisusanto, & N. S. N. Handayani. 2020. Comparison between three molecular diagnostics for the identification of heterozygous hemoglobin E. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 23(1): 17–26.

Arumdapta, K.T. 2026. *Deteksi Mutasi Cd26 Gen HBB pada Keluarga Pasien β-Thalassemia di RSUD Tidar Kota Magelang* (Skripsi, UGM).

Bain, B. J. 2020. *Haemoglobinopathy Diagnosis*. 3rd Edition. John Wiley & Sons. UK. pp.1–6; 9.

Basu, D. & R. Kulkarni, 2014. Overview of blood components and their preparation. *Indian Journal of Anaesthesia*. 58(5): 529–537.

Burns, M., L. Foster, & M. Walker. 2020. *DNA techniques to verify food authenticity applications in food fraud*. CPI Group (UK) Ltd. UK. pp. 39 44.

Chaudhary, H. K., M. Shrestha, P. Chaudhary, & B. H. Poudel. 2017. Amplification refractory mutation system – polymerase chain reaction for rapid detection of rpoB gene mutation in *Mycobacterium tuberculosis*. *International Journal of Applied Science and Biotechnology*. 5(1): 81–85.

Chojnowska, S., Baran, T., Wilińska, I., Sienicka, P., Cabaj-Wiater, I. and Knaś, M., 2018. Human saliva as a diagnostic material. *Advances in medical sciences*, *63*(1), pp.185-191.

Farashi, S. & C. L. Harteveld. 2018. Molecular basis of α-thalassemia. *Blood Cell, Molecules, and Diseases*. 70:43–53.

Firdayanti, Umar, A., Susanti, Ismawatie, E., Sari, A.I., Supriyanta, B., Dewi, Y. R., Yashir, M., Chairani, Anggraini, F. T., Rahayu, M., Gunawan, L. S., Tuntun, M., Wibowo, S., Thaslifa., & Wenty, D. 2024. *Dasar-dasar Hematologi*. Purbalingga: Eureka Media Aksara.

Galanello, R. & R. Origa. 2010. Beta-thalassemia. *Orphanet Journal of Rare Disease*. 5(11): 1–15.

Guyton, A. C. & J. E. Hall. 2011. *Medical Physiology*. 12th Edition. Saunders Elseiver. Philadelphia. pp 415.

Hanafi, S., R. Hassan, R. Bahar, W. A. Abdullah, M. F. Johan, N. D. Rashid, N. F. Azman, A. Nasir, S. Hassan, R. Ahmad, A. Othman, M. I. Ibrahim, S. Sukeri, S. Sulong, S. Yusoff, N. S. Mohamad, A. Hussein, R. Hassan, N. Yusoff, B. H.

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Deteksi Mutasi IVSI-5 (G>C) Gen Beta-Globin pada Keluarga Pasien Beta-Thalassemia di RSUD Tidar, Kota Magelang
Adifa Brahmantya Darudhita, Prof. Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

Yahya, E. Ismail, N. K. N. Yussof, S. Salleh, & B. A. Zilfalil. 2014. Multiplex amplification refractory mutation system (MARMS) for the detection of β-globin gene mutations among the transfusion-dependent β thalassemia Malay patients in Kelantan, Northeast of Peninsular Malaysia. *American Journal of Blood Research*. 4(1): 33–40.

Handayani, N. S. N., N. Husna, G. Rahmil, R. A. Ghifari, L. Widyawati, & I. Lesmana. 2020. Splice-site and frameshift mutation of β-globin gene found in thalassemia carrier screening in Yogyakarta special region, Indonesia. *Indones Biomed J*. 13(1): 55–60.

Harahap, A.S., 2017. UJI KUALITAS DAN KUANTITAS DNA BEBERAPA POPULASI POHON KAPUR SUMATERA: Ariani Syahfitri Harahap. *Jasa Padi*, *2*(2): 1-6.

Haris, N., Hajrial. A, Nurita. T.M, dan Agus. P. 2003. Kemiripan genetik klon karet (*Hevea brasiliensis* Muell Arg.) berdasarkan metode amplified fragment length polymorphisms (AFLP). *Menara Perkebunan,* 71(1): 1-15.

Hassan, S., R. Ahmad, Z. Zakaria, Z. Zulkafli, & W. Z. Abdullah. 2012. Detection of β-globin gene mutations among β-thalassemia carriers and patient in Malaysia: application of multiplex amplification refractory mutation system-polymerase chain reaction. *Malaysian Journal Medicine Science*. 20(1):13–20.

Hidayati, N. I., N. Wijayanti, & N. S. N. Handayani. 2020. Detection of HBB:c.92+5G>C and HBB:c.108delC mutations in β-thalassemia carriers using high-resolution melting analysis. *Molecular Biology Reports*. 47:5665–5671.

Hoffbrand, A. V. & P. A. H. Moss. 2011. *Essential Haemology*. 6th Edition. John Wiley & Sons, Inc. UK.

Indrawati, V.N. 2022. *Deteksi Mutasi Cd 26 dan Cd 35 Gen Pengkode β-Globin pada Pasien β-thalassemia di RSUD Tidar Kota Magelang* (Skripsi, UGM). https://etd.repository.ugm.ac.id/penelitian/detail/216063

Jannah, M. 2014. *Profil Hematologis dan Deteksi Molekular Pembawa Sifat Hemoglobin E di Yogyakarta*. Tesis. Tidak Diterbitkan. UGM. Yogyakarta.

Lie-Injo, L.E., Cai. S.P, I. Wahidijat, S. Moeslichan, M.L. Lim, L. Evangelista, M. Doherty & Y.W. Kan. 1989. β-thalassemia mutations in Indonesia and their linkage to b haplotypes. *Am J Hum Genet*. 45(6): 971–975.

Little S. 2001. Amplification-refractory mutation system (ARMS) analysis of point mutations. *Curr Protoc Hum Gene*: 1-2.

Marengo-Rowe, A. J. M. D. 2007. The thalassemias and related disorders. *Baylor University Medical Center Proceedings*. 20(1):27–31.

Nienhuis, A. W. & D. G. Nathan. 2012. Pathophysiology and clinical manifestations of the β-thalassemias. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2:a011726.

Nur, A. and Yamamoto, Z., 2022. Saliva sebagai sumber DNA genom manusia. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala*, *22*(2): 127-131.

Old, J. M. 1991. Detection of mutations by the Amplification Refractory Mutation System (ARMS). In: Mathew C.G. (eds) *Protocols in Human Molecular Genetics*. *Methods in Molecular Biology*. Vol 9. Springer. Totowa, NJ.

Old, J., C. L. Harteveld, J. Traeger-Synodinos, M. Petrou, M. Angastiniotis, & R. Galanello. 2012. *Prevention Of Thalassaemias And Other Haemoglobin Disorders Volume 2: Laboratory Protocols*. 2nd Edition. Thalassaemia International Federation Publication. Cyprus. pp. 89–91.

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Deteksi Mutasi IVSI-5 (G>C) Gen Beta-Globin pada Keluarga Pasien Beta-Thalassemia di RSUD Tidar, Kota Magelang
Adifa Brahmantya Darudhita, Prof. Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

Pardosi, Z.R.H., 2025. *PEMERIKSAAN KADAR HEMOGLOBIN PADA PASIEN GAGAL GINJAL KRONIS SEBELUM DAN SESUDAH MELAKUKAN HEMODIALISA DI RSUD H. ABDUL MANAN SIMATUPANG KISARAN* (Doctoral dissertation, Poltekkes Medan).

Roca, X., R. Sachidanandam, & A. R. Krainer. 2003. Intrinsic differences between authentic and cryptic 5‟ splice sites. *Nucleic Acids Research*. 31(21):6321–6333.

Rongers, K. 2011. *The Human Body Blood Physiology and Circulation*. Britannica Educational Publishing. New York. pp. 17–19.

Rujito, L., M. Basalamah, S. Mulatsih, & A. Salam. 2015. Molecular scanning of β-thalassemia in the Southern Region of Central Java, Indonesia; a step towards a local prevention program. *Journal Hemoglobin*. 39(5): 330–333.

Rujito, L. 2019. *Talasemia: Genetik Dasar dan Pengelolaan Terkini*. Universitas Jendral Soedirman Press. Purwokerto.

Saha, D., M. Patgaonkar, A. Shroff, K. Ayyar, T. Bashir, & K. V. R. Reddy. 2014. Hemoglobin expression in nonerythroid cells novel or ubiquitous. *International Journal of Inflammation*. 2014:1–8.

Schaller, J., S. Gerber, U. Kämpfer, S. Lejon, & C. Trachsel. 2008. *Human Blood Plasma Proteins Structure and Function*. John Wiley & Sons Ltd. West Sussex. pp. 7–8.

Tamam, M., S. Hadisaputro, Sutaryo, I. Setianingsih, R. Astuti, & A. Soemantri. 2010. Hubungan antara tipe mutasi gen globin dan manifestasi klinis penderita talassemia. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. 26:48–52.

Thein, S. L., P. Winichagoon, C. Hesketh, S. Best, S. Fucharoen, P. Wasi, & D. J. Weatherall. 1990. The molecular basis of β-thalassemia in Thailand: application to prenatal diagnosis. *Am J Hum Genet*. 47:369–375.

Thein, S. L. 2013. The molecular basis of β-thalassemia. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 3:a011700.

Treisman, R., S. H. Orkin, & T. Maniatis. 1983. Specific transcription and rna splicing defects in five cloned β-thalassaemia genes. *Nature*. 302: 591–596.

‘Ulya, N.M. 2022. *Deteksi Mutasi IVSI-5 (G>C) dan IVSI-1 (G>T) Gen Pengkode β-globin pada Pasien β-thalassemia di RSUD Tidar Kota Magelang* (Skripsi, UGM). https://etd.repository.ugm.ac.id/penelitian/detail/216122

‘Ulya, N.M., Indrawati, V.N., Wulansari, W.T., Lesmana, I. and Handayani, N.S.N. 2023. Mutation Spectrum of β-Globin Gene in Patients with β-Thalassemia at Tidar Hospital, Magelang, Central Java, Indonesia. *Hemoglobin*, 47(4), pp.152-156.

Wahed, A. & A. Dasgupta. 2015. *Hematology and Coagulation*. Elsevier. USA. pp. 55–61.

Wattendorf, D.J. and Hadley, D.W., 2005. Family history: the three-generation pedigree. *American family physician*, *72*(3), pp.441-448.

Yang, L., I. Ijaz, J. Cheng, C. Wei, X. Tan, M. A. Khan, X. Fu, & J. Fu. 2018. Evaluation of amplification refractory mutation system (ARMS) technique for quick and accurate prenatal gene diagnosis of CHM variant in choroideremia. *The Application of Clinical Genetics*. 11:1–8.

Yayasan Thalassemia Indonesia. 2021. Laporan kasus thalassemia Indonesia. Jakarta.

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Deteksi Mutasi IVSI-5 (G>C) Gen Beta-Globin pada Keluarga Pasien Beta-Thalassemia di RSUD Tidar, Kota Magelang
Adifa Brahmantya Darudhita, Prof. Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

LAMPIRAN

Lampiran 1. Tahapan uji elektroforesis DNA Genom

Tahapan Persiapan Running Elektroforesis dengan *Gel Agarose* 0,8%
1. Bubuk agarose 0,32 gram dan 0,4 gram dimasukkan dalam gelas erlenmeyer dan ditambahkan *buffer* TAE 1X 40 mL dan 50 mL.
2. Campuran dipanaskan dalam *microwave* 100ºC dengan bagian atas dibiarkan terbuka.
3. Gelas erlenmeyer digoyangkan agar bubuk agarose dapat terlarut sempurna. Pemanasan dalam *microwave* dihentikan setelah larutan tercampur sempurna.
4. Larutan agarose didinginkan selama 10 menit, kemudian ditambahkan *fluorosafe stain* 3 µL dan 4 µL.
5. Agarose dituangkan pada cetakan yang sudah diberi sisir. Sisir tersebut digunakan untuk membentuk sumuran (*well*) pada *gel agarose*.
6. *Gel agarose* didiamkan sekitar 20 menit agar memadat. Setelah memadat, *gel* agarose diangkat dari cetakan
7. *Gel agarose* dimasukkan dalam tangki elektroforator dan dituangkan buffer TAE 1X hingga gel terendam.
8. Sumuran pertama diisi dengan ladder/marker berupa 100 bp DNA ladder sebanya 3 µL.
9. Sumuran berikutnya diisi dengan sampel sebanyak 5 µL.
10. Alat elektroforator dinyalakan pada tegangan 100 volt selama 30 menit.

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Deteksi Mutasi IVSI-5 (G>C) Gen Beta-Globin pada Keluarga Pasien Beta-Thalassemia di RSUD Tidar, Kota Magelang
Adifa Brahmantya Darudhita, Prof. Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

Lampiran 2. Tahapan uji elektroforesis hasil ARMS-PCR mutasi IVSI-5 (G>C)

Tahapan Persiapan Running Elektroforesis dengan *Gel Agarose* 1%
1. Bubuk agarose 0,4 gram dan 0,5 gram dimasukkan dalam gelas erlenmeyer dan ditambahkan *buffer* TAE 1X 40 mL dan 50 mL.
2. Campuran dipanaskan dalam *microwave* 100ºC dengan bagian atas dibiarkan terbuka.
3. Gelas erlenmeyer digoyangkan agar bubuk agarose dapat terlarut sempurna. Pemanasan dalam *microwave* dihentikan setelah larutan tercampur sempurna.
4. Larutan agarose didinginkan selama 10 menit, kemudian ditambahkan *fluorosafe stain* 3 µL dan 4 µL.
5. Agarose dituangkan pada cetakan yang sudah diberi sisir. Sisir tersebut digunakan untuk membentuk sumuran (*well*) pada *gel agarose*.
6. *Gel* agarose didiamkan sekitar 20 menit agar memadat. Setelah memadat, *gel agarose* diangkat dari cetakan
7. *Gel agarose* dimasukkan dalam tangki elektroforator dan dituangkan buffer TAE 1X hingga gel terendam.
8. Sumuran pertama diisi dengan ladder/marker berupa 100 bp DNA ladder sebanya 3 µL.
9. Sumuran berikutnya diisi dengan sampel sebanyak 5 µL.
10. Alat elektroforator dinyalakan pada tegangan 100 volt selama 30 menit.

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Deteksi Mutasi IVSI-5 (G>C) Gen Beta-Globin pada Keluarga Pasien Beta-Thalassemia di RSUD Tidar, Kota Magelang
Adifa Brahmantya Darudhita, Prof. Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

Lampiran 3. Nilai rujukan pemeriksaan hematologis

No.	Parameter	Jenis Kelamin	Usia	Nilai Rujukan	Satuan
1.	Hemoglobin	Laki-laki	1-5 tahun	10,8–14,7	g/dL
			5-10 tahun	10,7–15,6	
			11-15 tahun	11,8–16,8	
			16-18 tahun	12,8–17,3	
			>18 tahun	13,2–17,3	
		Perempuan	1-5 tahun	10,8–14,7	
			5-10 tahun	10,7–15,6	
			11-15 tahun	11,8–16,8	
			16-18 tahun	12,8–15,5	
			>18 tahun	11,7–15,5	
2.	Hematokrit	Laki-laki	1-5 tahun	35–43	%
			5-10 tahun	31–45	
			11-15 tahun	33–52	
			16-18 tahun	33–52	
			>18 tahun	40–52	
		Perempuan	1-5 tahun	35–43	
			5-10 tahun	31–45	
			11-15 tahun	33–47	
			16-18 tahun	33–47	
			>18 tahun	33–47	
3.	Eritrosit	Laki-laki	1-5 tahun	3,6–5,7	$10^6/\mu L$
			5-10 tahun	3,7–5,8	
			11-15 tahun	3,8–5,9	
			16-18 tahun	3,8–5,9	
			>18 tahun	4,4–5,9	
		Perempuan	1-5 tahun	3,6–5,7	
			5-10 tahun	3,7–5,8	
			11-15 tahun	3,7–5,2	
			16-18 tahun	3,7–5,2	
			>18 tahun	3,8–5,2	

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Deteksi Mutasi IVSI-5 (G>C) Gen Beta-Globin pada Keluarga Pasien Beta-Thalassemia di RSUD Tidar, Kota Magelang
Adifa Brahmantya Darudhita, Prof. Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc.
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

Lampiran 4. Nilai rujukan indeks korpuskular

No	Parameter	Jenis Kelamin	Usia	Nilai Rujukan	Satuan
1.	MCV	Laki-laki	1-5 tahun	73–88	fL
			5-10 tahun	72–93	
			11-15 tahun	69–100	
			16-18 tahun	80–100	
			>18 tahun	80–100	
		Perempuan	1-5 tahun	73–88	
			5-10 tahun	72–93	
			11-15 tahun	69–100	
			16-18 tahun	80–100	
			>18 tahun	80–100	
2.	MCH	Laki-laki	1-5 tahun	23–31	pg
			5-10 tahun	26–34	
			11-15 tahun	26–34	
			16-18 tahun	26–34	
			>18 tahun	26–34	
		Perempuan	1-5 tahun	23–31	
			5-10 tahun	26–34	
			11-15 tahun	26–34	
			16-18 tahun	26–34	
			>18 tahun	26–34	
3.	MCHC	Laki-laki	1-5 tahun	26–34	g/dL
			5-10 tahun	32–36	
			11-15 tahun	32–36	
			16-18 tahun	32–36	
			>18 tahun	32–36	
		Perempuan	1-5 tahun	26–34	
			5-10 tahun	32–36	
			11-15 tahun	32–36	
			16-18 tahun	32–36	
			>18 tahun	32–36	