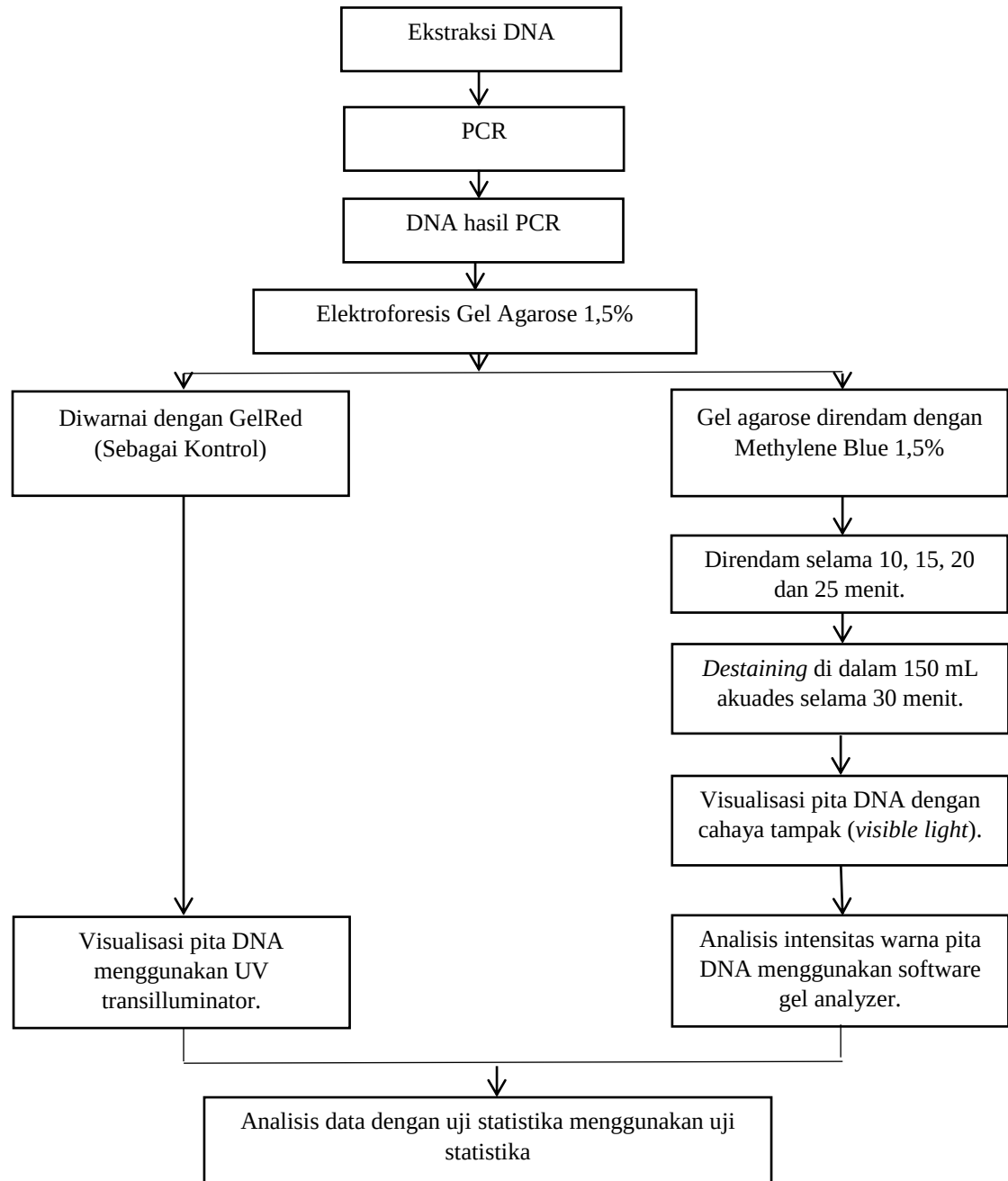


LAMPIRAN

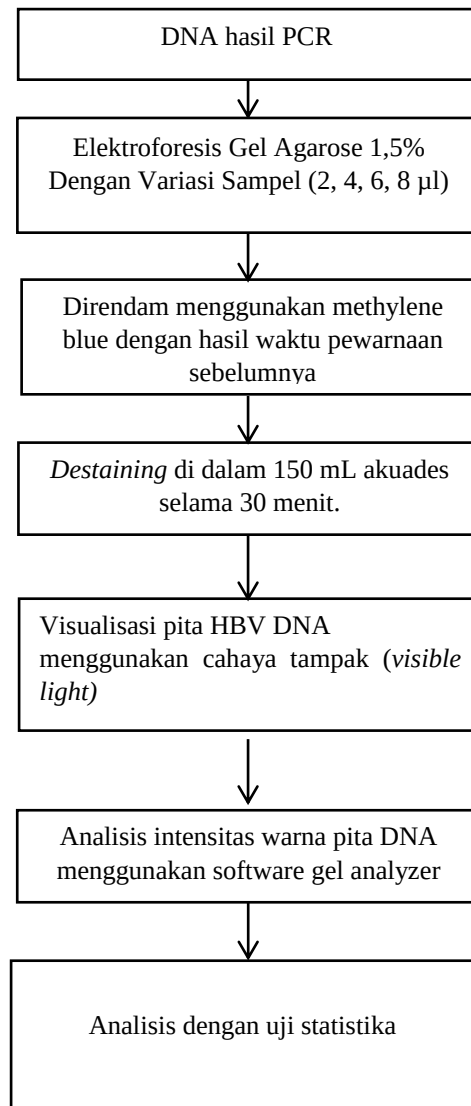
Lampiran 1

Alur Kerja Penelitian

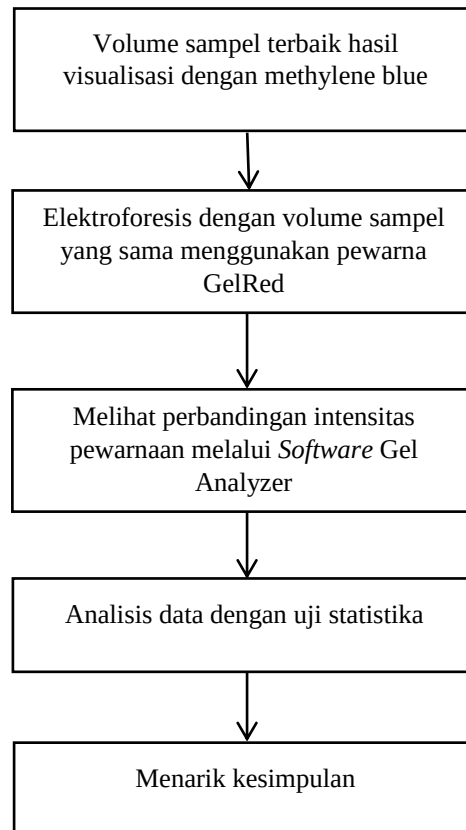
A. Alur kerja pewarnaan



B. Alur kerja variasi volume sampel



C. Alur Kerja Sensitivitas



Lampiran 2

Surat Keterangan Layak Etik



Kementerian Kesehatan

Poliptekkes Tanjungkarang

Jalan Soekarno Hatta No.6 Bandar Lampung
Lampung 35145
(0721) 783852
<https://poliitkkes-tjkar.id>

KETERANGAN LAYAK ETIK DESCRIPTION OF ETHICAL EXEMPTION "ETHICAL EXEMPTION"

No.068/KEPK-TJK/HU/2025

Protokol penelitian versi 1 yang diusulkan oleh :
The research protocol proposed by

Peneliti utama : Dawin Olivia Az-Zahra
Principal Investigator

Nama Institusi : Poliitkkes Kemenkes Tanjungkarang
Name of the Institution

Dengan judul:
Title
"Sensitivitas Methylene Blue Sebagai Alternatif Pewarna DNA Pasien Positif Hepatitis B Pada Proses Elektroforesis Agarose"

"The Sensitivity of Methylene Blue as an Alternative DNA Stain for Hepatitis B-Positive Patients in Agarose Gel Electrophoresis"

Dinyatakan layak etik sesuai 7 (tujuh) Standar WHO 2011, yaitu 1) Nilai Sosial, 2) Nilai Ilmiah, 3) Pemenuhan Bebas dan Manfaat, 4) Risiko, 5) Bujukan/Eksploitasi, 6) Kerahasiaan dan Privacy, dan 7) Persetujuan Setelah Penjelasan, yang terdapat pada Pedoman CIOMS 2016. Hal ini seperti yang ditunjukkan oleh terpenuhinya indikator setiap standar.

Declared to be ethically appropriate in accordance to 7 (seven) WHO 2011 Standards, 1) Social Values, 2) Scientific Values, 3) Equitable Assessment and Benefit, 4) Risk, 5) Persuasion/Exploitation, 6) Confidentiality and Privacy, and 7) Informed Consent, referring to the 2016 CIOMS Guidelines. This is as indicated by the fulfillment of the indicators of each standard.

Pernyataan Layak Etik ini berlaku selama kurun waktu tanggal 18 Maret 2025 sampai dengan tanggal 18 Maret 2026.

This declaration of ethics applies during the period March 18, 2025 until March 18, 2026.



Dr. Aprina, S.Kp., M.Kes

Lampiran 3

Surat Izin Penelitian

 Kemenkes Poltekkes Tanjungkarang	Kementerian Kesehatan Direktorat Jenderal Sumber Daya Manusia Kesehatan Poltekkes Kesehatan Tanjungkarang Jl. Sekeloa Timur No. 100, Bandar Lampung Lampung 35121 Telp. (071) 7081111 Email: info@kemkes.go.id
Nomor : PP.01.04/F.XXXV/2724/2025 Lampiran : 1 Berkas Hal : Izin Penelitian	14 Mei 2025
Yth, Direktur RS.Pertamina – Bintang Amin Bandar Lampung Di- Tempat	
Sehubungan dengan penyusunan Skripsi bagi mahasiswa Tingkat IV Program Studi Teknologi Laboratorium Medis Program Sarjana Terapan Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Tanjungkarang Tahun Akademik 2024/2025, maka dengan ini kami mengajukan permohonan izin penelitian bagi mahasiswa di instansi yang Bapak/Ibu Pimpin. Berikut terlampir daftar nama mahasiswa yang melakukan penelitian.	
Atas perhatian dan kerjasamanya diucapkan terima kasih.	
Pih. Direktur Politeknik Kesehatan Kemerkes Tanjungkarang,	
	
Ns. MARTINI FAIRUS, S.Kep, M.Sc	
Tembusan: 1.Ka.Jurusan Teknologi Laboratorium Medis 2.Ka.Bid.Diet	
Kementerian Kesehatan tidak menerima surat dan/atau gratifikasi dalam bentuk apapun. Jika terdapat pelanggaran atau gratifikasi silakan laporkan melalui HALO.KEMENKES@kemdiknas.go.id dan https://ops.kemkes.go.id. Untuk verifikasi keaslian tanda tangan elektronik, silakan unggah dokumen pada laman https://tik.kemkes.go.id/verifikasi.	
	
Dokumen ini telah diarsipkan secara elektronik menggunakan sertifikat elektronik yang diterbitkan oleh Balai Besar Sertifikasi Elektronik (BSrE), Badan Siber dan Sandi Negara	

Lampiran 1 : Izin Penelitian
Nomor : PP.01.04/F.XXXV/2724/2025
Tanggal : 14 Mei 2025

DAFTAR JUDUL PENELITIAN
MAHASISWA PROGRAM STUDI TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS PROGRAM SARJANA TERAPAN
POLITEKNIK KESEHATAN KEMENTERIAN KESEHATAN TANJUNGPUR
TA.2024/2025

No.	MAHASISWA	JUDUL	TEMPAT PENELITIAN
1.	Davina Olivia Az-Zahra NIM: 2113353027	Sensitivitas Methylene- Blue Sebagai Alternatif Pewarna DNA Pasien Positif Hepatitis B Pada Proses Elektroforesis Agarose	RSP Bintang Amin
2.	Fitri Nurhasanah NIM: 2113353008	Hubungan Kadar Glukosa Darah Puasa Dengan Proteinuria Pada Pasien Diabetes Melitus Di Rumah Sakit Bintang Amin	
3.	Erna Juwita NIM: 2113353059	Perbandingan Kadar Kreatinin Serum pada Pasien Diabetes Mellitus tipe 2 Hipertensi dengan Non Hipertensi di Rumah Sakit Pertamina Bintang Amin	
4.	Fildzah Ghoitani Ifah NIM: 2413353122	Perbedaan Aktivitas Enzim SGOT dan SGPT pada karyawan shift dan non shift di PT Hakaaston (HKA) Tahun 2025	
5.	Azzahra Yuniar NIM: 2113353050	Hubungan Lama Menjalani Terapi ARV (Antiretroviral) Terhadap Kadar SGOT Dan SGPT Pada Penderita HIV Di Puskesmas Sukabumi Bandar Lampung	
6.	Khoyrotunnisa NIM: 2113353010	Pengaruh konsumsi makanan laut tinggi purin pada masyarakat pesisir desa Muara Gading Mas Lampung Timur	

Plh. Direktur Politeknik Kesehatan
Kemenkes Tanjungpur,



Ns, MARTINI FAIRUS, S.Kep, M.Sc

Lampiran 4

Dokumentasi penelitian



Persiapan alat dan bahan ekstraksi



Sampel plasma yang akan diekstraksi



Proses ekstraksi



Hasil ekstraksi sampel



Hasil ekstraksi yang akan di PCR



Running Real-Time PCR



Penimbangan 0.037 gr bubuk agarose



Pembuatan gel agarose 1,5%



Proses elektroforesis



Perendaman dengan
Methylene Blue 0.025%



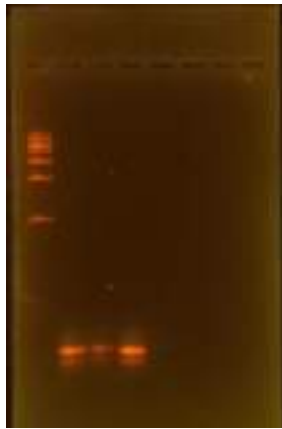
Destaining dengan
akuades selama 30 menit



Visualisasi pita DNA
Virus Hepatitis B

Lampiran 5

Visualisasi pita DNA



Gel Red



MB 0.025% 10 Menit



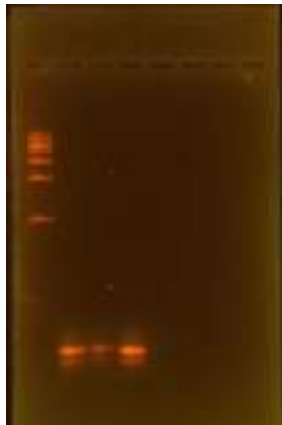
MB 0.025% 15 menit



MB 0.025% 20 Menit



MB 0.025% 25 Menit



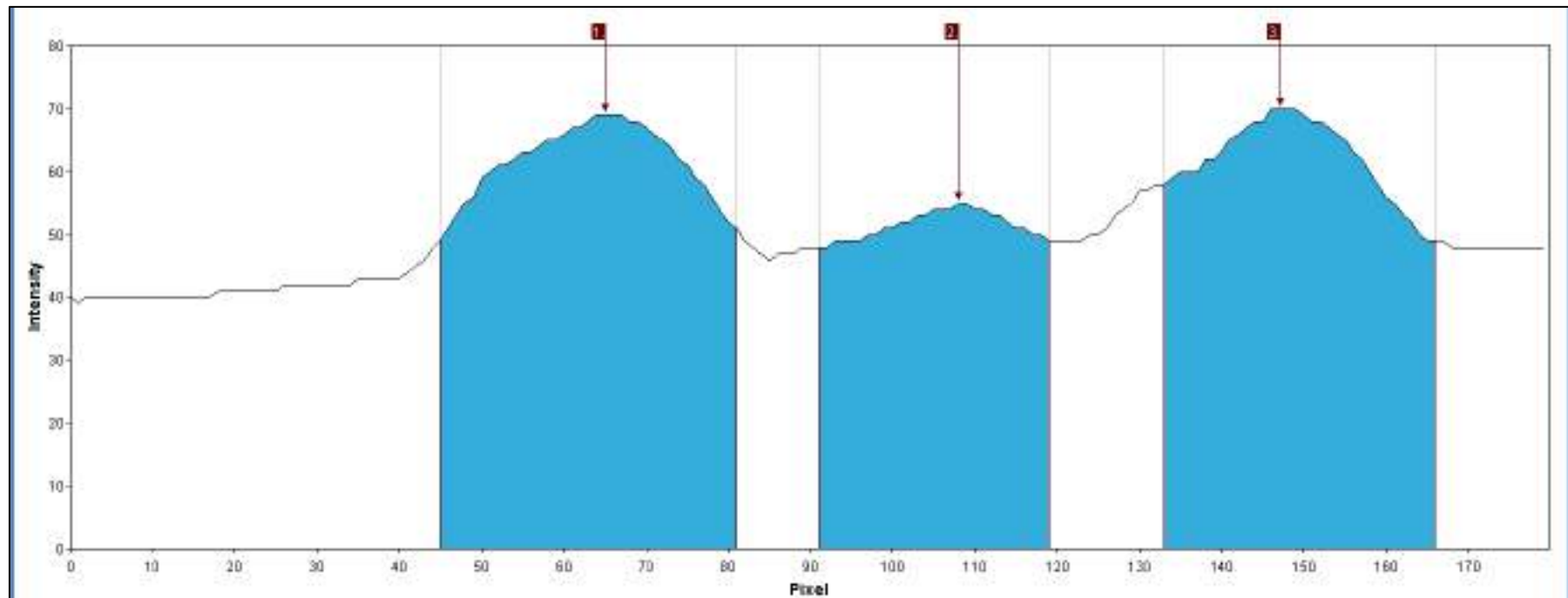
Gel Red



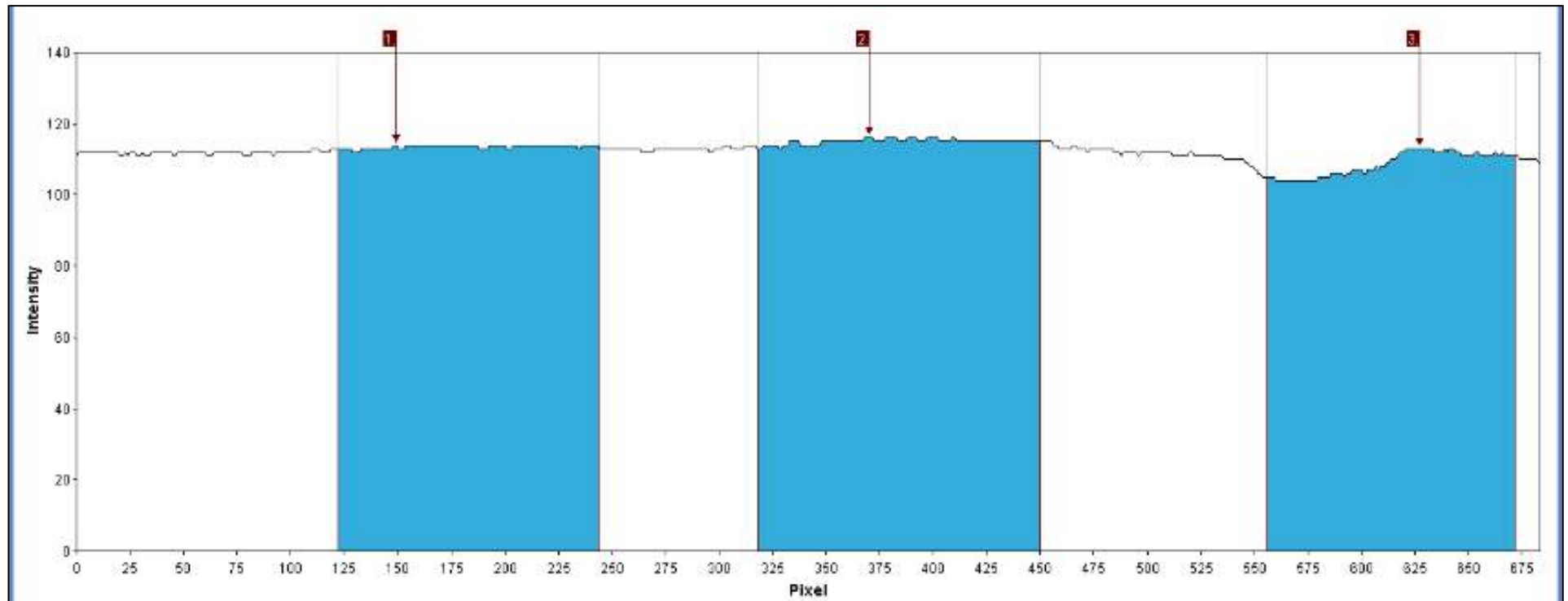
MB Volume sampel 2, 4,
6 dan 8 μ L

Lampiran 6

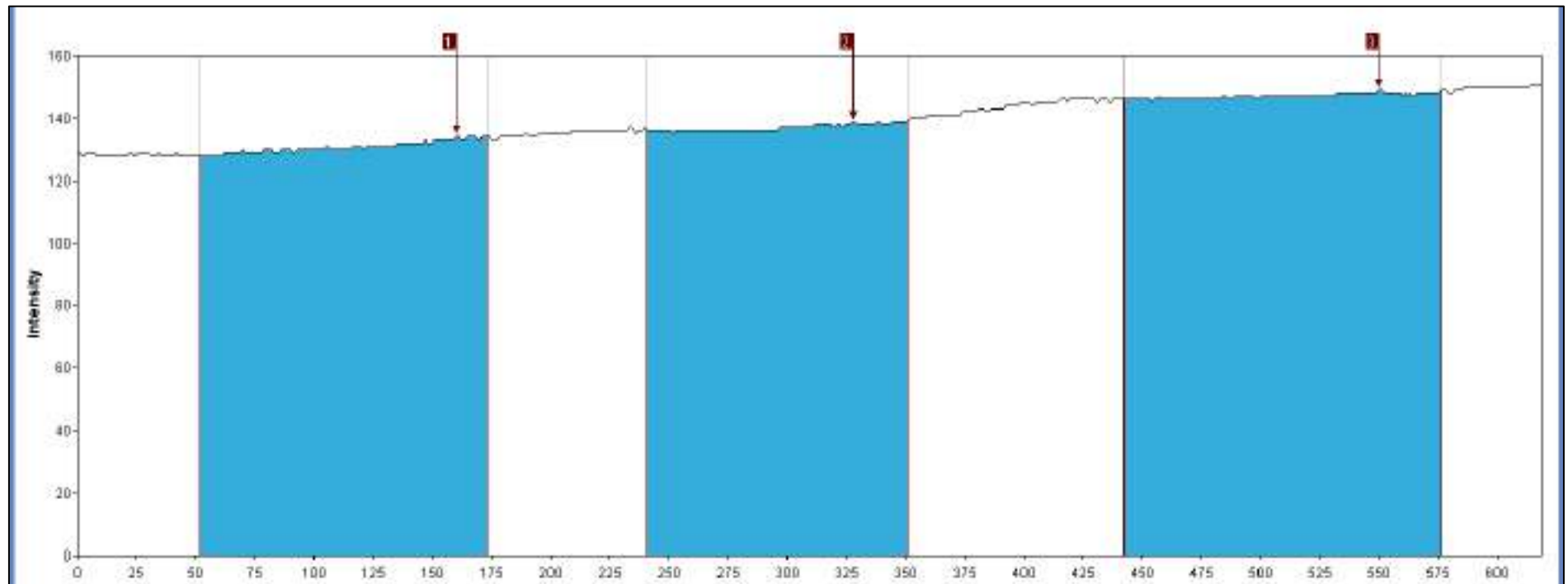
Grafik Intensitas pada Kontrol (GelRed)



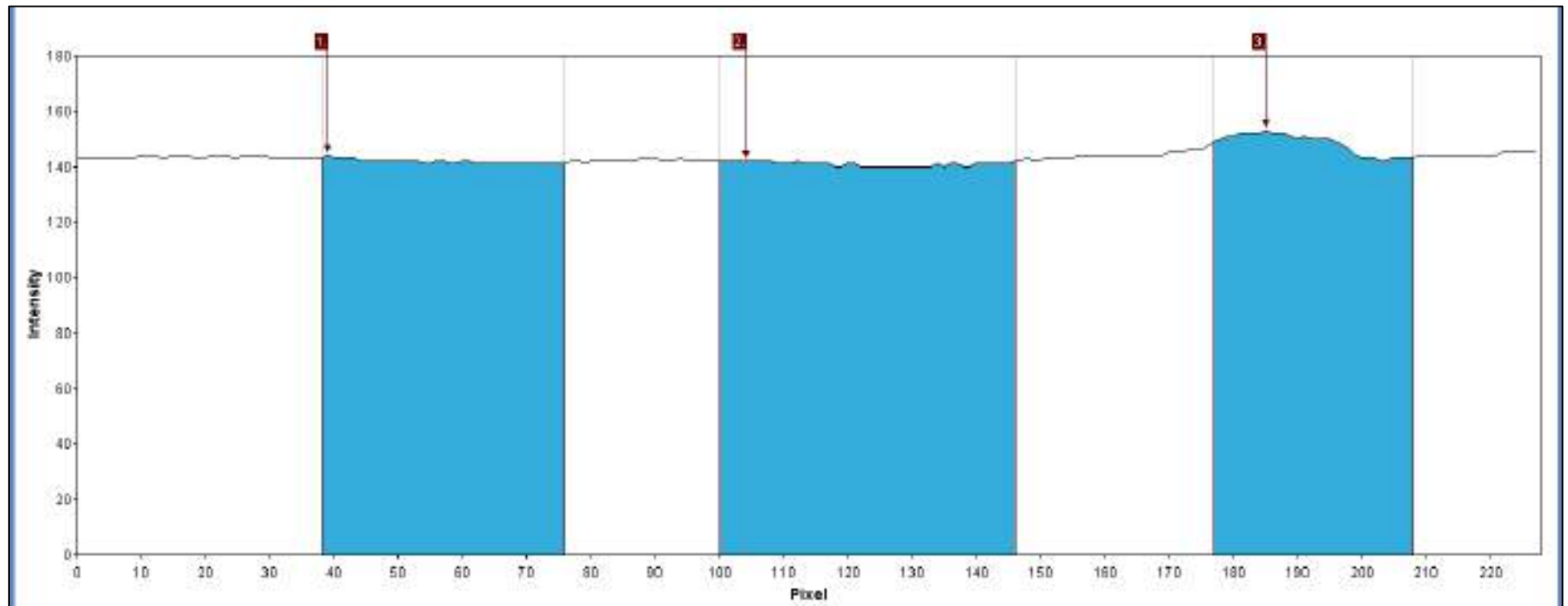
Grafik Intensitas warna 15 menit



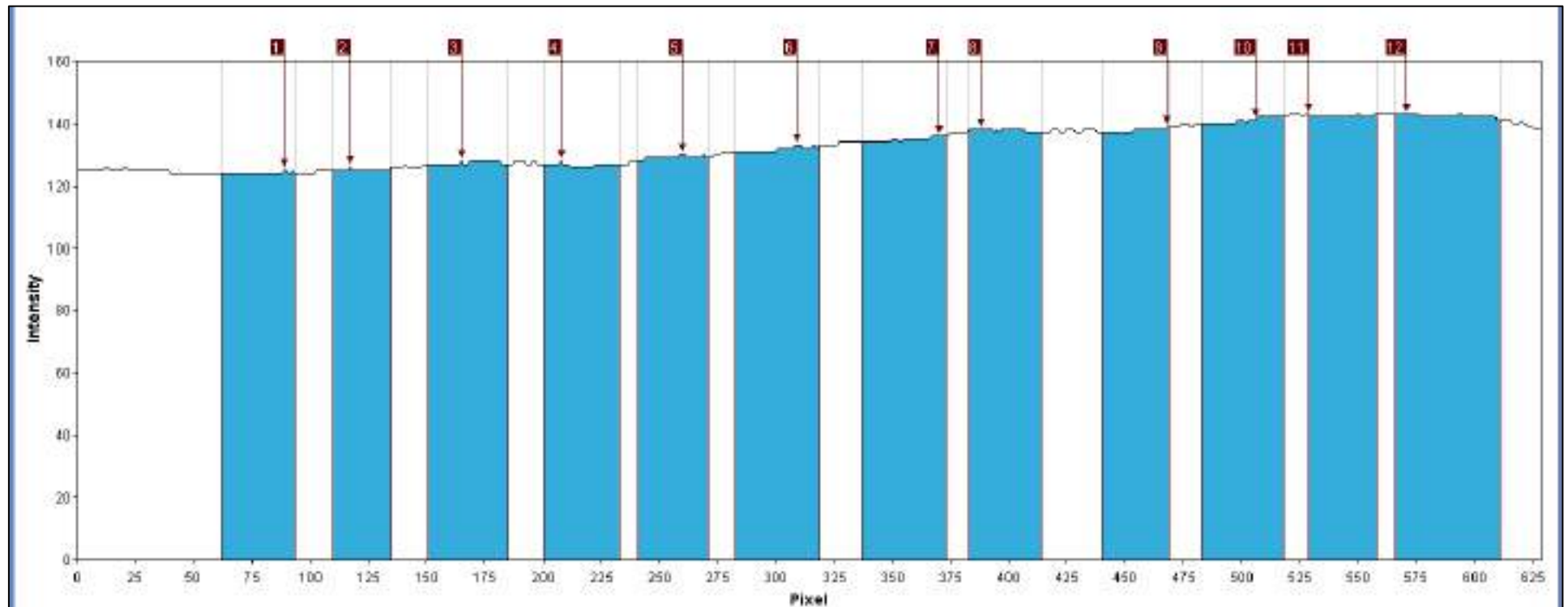
Grafik Intensitas warna 20 menit



Grafik Intensitas warna 25 menit



Grafik Intensitas warna berdasarkan volume 2, 4, 6, 8 μL .



Lampiran 7

Analisis Statistik

Tests of Normality

		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Perlakuan	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Intensitas	Kontrol	.364	3	.	.800	3	.114
	Perendaman 10 menit	.	3	.	.000	3	.000
	Perendaman 15 Menit	.253	3	.	.964	3	.637
	Perendaman 20 Menit	.253	3	.	.964	3	.637
	Perendaman 25 Menit	.321	3	.	.881	3	.328

a. Lilliefors Significance Correction

Test Statistics^{a,b}

Intensitas	
Kruskal-Wallis H	13.127
df	4
Asymp. Sig.	.011

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Perlakuan

Mann-Whitney Test

Ranks			
Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Intensitas: Kontrol	3	5.00	15.00
Perendaman 10 menit	3	2.00	6.00
Total	6		

Test Statistics^a

Intensitas	
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. (2*1-tailed)	.100 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan
b. Not corrected for ties.

Mann-Whitney Test

Ranks			
Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Intensitas: Kontrol	3	2.00	6.00
Perendaman 10 Menit	3	5.00	15.00
Total	6		

Test Statistics^a

Intensitas	
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.888
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. (2*1-tailed)	.100 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan
b. Not corrected for ties.

Mann-Whitney Test

Ranks			
Participant	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Intervention	3	3.00	9.00
Preventative 30 Month	3	5.00	15.00
Total	6		

Test Statistics^a

Intervention	
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.984
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. (2-tailed) (b)	.100 ^a

a. Grouping Variable: Participant
b. Not corrected for ties

Mann-Whitney Test

Ranks			
Participant	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Intervention	3	3.00	9.00
Preventative 30 Month	3	5.00	15.00
Total	6		

Test Statistics^a

Intervention	
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.984
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. (2-tailed) (b)	.100 ^a

a. Grouping Variable: Participant
b. Not corrected for ties

Mann-Whitney Test

Ranks			
Participant	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Intervention	3	3.00	9.00
Preventative 18 Month	3	5.00	15.00
Total	6		

Test Statistics^a

Intervention	
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.007
Asymp. Sig. (2-tailed)	.037
Exact Sig. (2-tailed) (b)	.100 ^a

a. Grouping Variable: Participant
b. Not corrected for ties

Mann-Whitney Test

Ranks			
Participant	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Intervention	3	3.00	9.00
Preventative 18 Month	3	5.00	15.00
Total	6		

Test Statistics^a

Intervention	
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.007
Asymp. Sig. (2-tailed)	.037
Exact Sig. (2-tailed) (b)	.100 ^a

a. Grouping Variable: Participant
b. Not corrected for ties

Mann-Whitney Test

Ranks			
Participant	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Intervention	3	3.00	9.00
Preventative 30 Month	3	5.00	15.00
Total	6		

Test Statistics^a

Intervention	
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.007
Asymp. Sig. (2-tailed)	.037
Exact Sig. (2-tailed) (b)	.100 ^a

a. Grouping Variable: Participant
b. Not corrected for ties

Mann-Whitney Test

Ranks			
Participant	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Intervention	3	3.00	9.00
Preventative 18 Month	3	5.00	15.00
Total	6		

Test Statistics^a

Intervention	
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.007
Asymp. Sig. (2-tailed)	.037
Exact Sig. (2-tailed) (b)	.100 ^a

a. Grouping Variable: Participant
b. Not corrected for ties

Mann-Whitney Test

Ranks			
Participant	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Intervention	3	3.00	9.00
Preventative 20 Month	3	5.00	15.00
Total	6		

Test Statistics^a

Intervention	
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.984
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. (2-tailed) (b)	.100 ^a

a. Grouping Variable: Participant
b. Not corrected for ties

Ranks			
Participant	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Intervention	3	3.00	9.00
Preventative 20 Month	3	5.00	15.00
Total	6		

Test Statistics^a

Intervention	
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.984
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. (2-tailed) (b)	.100 ^a

a. Grouping Variable: Participant
b. Not corrected for ties

Variasi Volume

Tests of Normality

	VOLUME	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
INTENSITAS	2 UL	.253	3	.	.964	3	.637
	4 UL	.219	3	.	.987	3	.780
	6 UL	.253	3	.	.964	3	.637
	8 UL	.385	3	.	.750	3	.000

a. Lilliefors Significance Correction

Test Statistics^{a,b}

INTENSITAS	
Kruskal-Wallis H	10.238
df	3
Asymp. Sig.	.017

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: VOLUME

Mann-Whitney Test

Mann-Whitney Test

Ranks				
	VOLUME	N	Mean Rank	Sum of Ranks
INTENSITAS	2 UL	3	2.00	6.00
	6 UL	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics^a

INTENSITAS	
Mann-Whitney U	202
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.883
Asymp. Sig. (2-tailed)	.060
Exact Sig. (2-tailed) based on Ties	.100 ^b

a. Grouping Variable: VOLUME
b. Not corrected for ties

Mann-Whitney Test

Ranks				
	VOLUME	N	Mean Rank	Sum of Ranks
INTENSITAS	2 UL	3	2.00	6.00
	6 UL	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics^a

INTENSITAS	
Mann-Whitney U	202
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.883
Asymp. Sig. (2-tailed)	.060
Exact Sig. (2-tailed) based on Ties	.100 ^b

a. Grouping Variable: VOLUME
b. Not corrected for ties

Ranks

	VOLUME	N	Mean Rank	Sum of Ranks
INTENSITAS	2 UL	3	2.00	6.00
	6 UL	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics^a

INTENSITAS	
Mann-Whitney U	8.00
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.883
Asymp. Sig. (2-tailed)	.060
Exact Sig. (2-tailed) based on Ties	.100 ^b

a. Grouping Variable: VOLUME
b. Not corrected for ties

Mann-Whitney Test

Ranks				
	VOLUME	N	Mean Rank	Sum of Ranks
INTENSITAS	4 UL	3	2.00	6.00
	6 UL	3	5.00	15.00
	Total	6		
Test Statistics ^a				
INTENSITAS				
Mann-Whitney U			.000	
Wilcoxon W			5.000	
Z			-1.984	
Asymp. Sig. (2-tailed)			.080	
Exact Sig. (2-tailed)			.100 ^b	
a. Grouping variable: VOLUME				
b. Not corrected for ties				

Mann-Whitney Test

Ranks			
	VOLUME	N	Sum of Ranks
BFTCHOTAG	4.1L	3	3.00
	6.1L	3	9.00
	Total	6	

Test Statistics^a

BFTCHOTAG	
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	9.000
Z	-1.925
Asymp. Sig. (2-tailed)	.040
Exact Sig. (2-tailed)	.100 ^b

- a. Grouping Variable: VOLUME
b. Not corrected for ties

Mann-Whitney Test

Ranks			
	VOLUME	N	Sum of Ranks
BFTCHOTAG	6.1L	3	2.00
	8.1L	3	9.00
	Total	6	

Test Statistics^a

BFTCHOTAG	
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	9.000
Z	-1.925
Asymp. Sig. (2-tailed)	.040
Exact Sig. (2-tailed)	.100 ^b

- a. Grouping Variable: VOLUME
b. Not corrected for ties

Lampiran 8

Nilai Cn HBV DNA yang diukur menggunakan *Real-Time* PCR

Sampel ID	Nilai Ct	Nilai Cn
D1	31.52	102.5526
D2	30.76	181.4746
D3	29.89	349.2805
D4	29.59	437.9847
D5	32.03	69.79604
D6	30.86	168.5206
D7	29.68	411.174

Lampiran 9
Hasil Turnitin

BAB_I5_davina-1751293219318			
ORIGINALITY REPORT			
21%	19%	5%	8%
SIMILARITY INDEX	INTERNET SOURCES	PUBLICATIONS	STUDENT PAPERS
PRIMARY SOURCES			
1	idoc.pub Internet Source	4%	
2	repository.poltekkes-tjk.ac.id Internet Source	3%	
3	repositori.uin-alauddin.ac.id Internet Source	1%	
4	poltekkesbdg.info Internet Source	1%	
5	text-id.123dok.com Internet Source	1%	
6	Submitted to Badan PPSDM Kesehatan Kementerian Kesehatan Student Paper	1%	
7	www.scribd.com Internet Source	1%	
8	repository.ipb.ac.id Internet Source	1%	
9	Submitted to Universitas Jenderal Soedirman Student Paper	1%	
10	docplayer.info Internet Source	1%	
11	conference.juriskes.com Internet Source	<1%	
12	Nella Wahyuni, Nurul Wahida Hidayat, Sinta Sinta. "Analisis Komparasi Kinerja Keuangan	<1%	

Bank Umum Syariah Asia Tenggara Dengan Pendekatan Islamicity Performance Index",
Jambura Accounting Review, 2023

Publication

13	adoc.pub Internet Source	<1 %
14	repository.uinjkt.ac.id Internet Source	<1 %
15	123dok.com Internet Source	<1 %
16	perpustakaan.poltekkes-malang.ac.id Internet Source	<1 %
17	Yesi Nurmalasari, Rakhmi Rafie, Devita Febriani Putri, Vivi Diah Permatasari. "PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN KELOR (MORINGA OLEIFERA) SEBAGAI UPAYA PREVENTIF KERUSAKAN HISTOPATOLOGI PANKREAS TIKUS PUTIH (RATTUS NORVEGICUS) YANG DIINDUKSI ALOKSAN", PREPOTIF : Jurnal Kesehatan Masyarakat, 2021 Publication	<1 %
18	Submitted to Padjadjaran University Student Paper	<1 %
19	elitha-eri.net Internet Source	<1 %
20	www.neliti.com Internet Source	<1 %
21	Dinda Helsa Auliantika, Didik Wahyudi. "Deteksi Gen SLC30A8 pada Sampel Darah Penderita Diabetes Melitus Tipe 2 Dengan Metode Polymerase Chain Reaction",	<1 %

BIOPENDIX: Jurnal Biologi, Pendidikan dan Terapan, 2023

Publication

22	Submitted to UIN Sunan Ampel Surabaya Student Paper	<1 %
23	Submitted to Universitas Muhammadiyah Surakarta Student Paper	<1 %
24	Submitted to Landmark University Student Paper	<1 %
25	Novrian Akbar, Kartika Sari, Nikki Aldi Massardi. "Pengaruh pemberian teh hitam (camellia sinensis) terhadap gambaran histopatologi gaster tikus putih (Rattus norvegicus) jantan Sprague dawley yang diinduksi minyak jelantah", Jurnal Kedokteran Raflesia, 2021 Publication	<1 %
26	Submitted to Universitas Pelita Harapan Student Paper	<1 %
27	eprints.perbanas.ac.id Internet Source	<1 %
28	repo.poltekkesdepkes-sby.ac.id Internet Source	<1 %
29	repo.unbrah.ac.id Internet Source	<1 %
30	Submitted to Universitas Pendidikan Indonesia Student Paper	<1 %
31	jurnal.unej.ac.id Internet Source	<1 %
32	repository.ar-raniry.ac.id Internet Source	<1 %

33	roboguru.ruangguru.com Internet Source	<1 %
34	digilibadmin.unismuh.ac.id Internet Source	<1 %
35	ojs.unud.ac.id Internet Source	<1 %
36	Engjinia Frenny Kandio, Adithya Yudistira, John M.R. Runtuwene. "ISOLASI BAKTERI ENDOFIT SIMBION DARI SPONS Stylissa sp. DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI SERTA IDENTIFIKASI SECARA MOLEKULER MENGGUNAKAN GEN 16S rRNA", PHARMACON, 2021 Publication	<1 %
37	digilib.unisayogya.ac.id Internet Source	<1 %
38	jurnalilmiah.stikescitradelima.ac.id Internet Source	<1 %
39	megawati.bm.uma.ac.id Internet Source	<1 %
40	natur.ejournal.unri.ac.id Internet Source	<1 %
41	pt.scribd.com Internet Source	<1 %
42	repository.ubn.ru.nl Internet Source	<1 %
43	tiarameltiaputri.wordpress.com Internet Source	<1 %
44	www.slideshare.net Internet Source	<1 %
45	digilib.unila.ac.id Internet Source	<1 %

46	digilib.uns.ac.id Internet Source	<1 %
47	dilazada.blogspot.com Internet Source	<1 %
48	ecampus.poltekkes-medan.ac.id Internet Source	<1 %
49	es.scribd.com Internet Source	<1 %
50	id.scribd.com Internet Source	<1 %
51	ijrp.org Internet Source	<1 %
52	jurnal.upnyk.ac.id Internet Source	<1 %
53	thesis.binus.ac.id Internet Source	<1 %
54	www.biorxiv.org Internet Source	<1 %
55	www.researchgate.net Internet Source	<1 %
56	jurnal.yudharta.ac.id Internet Source	<1 %
57	ktikebidanankeperawatan.wordpress.com Internet Source	<1 %
58	Basuki Rachmad, Wiria Saputri, Yandi A.S, Andi Setiawan, Mulyono Mulyono. "Isolasi dan Identifikasi Gen Resisten Ciprofloxacin pada Isolat Escherichia coli MDR Ciprofloxacin dari Penderita ISK di RSUDAM Provinsi Lampung", Jurnal Kedokteran Universitas Lampung, 2017 Publication	<1 %

59 Sukmawati Sukmawati, Rahmawati
Rahmawati, Kenanga Isyanda A.. "EFEK
ANTINEFROTOKSISITAS EKSTRAK ETANOL
DAUN PANDAN WANGI (Pandanus
amaryllifolius Roxb.) DENGAN PARAMETER
KADAR UREUM TIKUS PUTIH", Jurnal Ilmiah
As-Syifaa, 2022
Publication

<1 %

60 hes-gotappointment-newspaper.lcu
Internet Source

<1 %

61 jurnal.fk.unand.ac.id
Internet Source

<1 %

Exclude quotes Off

Exclude matches Off

Exclude bibliography Off

KARTU BIMBINGAN SKRIPSI
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIK PROGRAM SARJANA TERAPAN
TAHUN AKADEMIK 2024-2025

Nama Mahasiswa : Davina Olivia Az-Zahra
 NIM : 2113353027
 Judul Skripsi : Sensitifitas Methylene Blue Sebagai Alternatif Pewarna DNA Pasien
 Positif Hepatitis B Pada Proses Elektroforsis Agarose
 Pembimbing Utama : Hartanti, S.Si, M.Si

No	Tanggal Bimbingan	Materi Bimbingan	Keterangan	paraf
1.	senin, 11.2.2025	Penulisan Bab 1,2,3	Revisi	
2.	selasa 26.2.2025	Penambahan materi	Revisi	
3.	Rabu 4.3.2025	Bab 1, 2, 3.	Acc gaya	
4.	Rabu 18.3.2025.	Revisi	Revisi	
5.	kamis 10.4.2025	Acc penelitian	Acc	
6.	Rabu 14.5.2025	penelitian	penelitian	
7.	Jumat 23.5.2025	konsultasi penelitian	konsultasi	

No	Tanggal Bimbingan	Materi Bimbingan	Keterangan	paraf
8.	Rabu 4 Juni 2025	konsultasi penelitian	konsultasi	
9.	Selasa 10 Juni 2025	- konsul data - konsultasi bab 4 dan 5 - penulisan bab 4 dan 5	Revisi	
10.	Jum'at 13 Juni 2025	Revisi penulisan bab 4 & 5 - konsultasi turnitin	Revisi	
11.	Selasa 17 Juni 2025	Bab 4 & 5	Acc Sembaris	
12.	Senin. 23 Juni 2025	- Bab 1 - 5 - jurnal penelitian - Acc cetak.	Acc Cetak	

Catatan : Coret yang tidak perlu*

Ketua Prodi TLM Program Sarjana Terapan



Nurminha, M.Sc
NIP. 196911241989122001

KARTU BIMBINGAN SKRIPSI
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIK PROGRAM SARJANA TERAPAN
TAHUN AKADEMIK 2023-2024

Nama Mahasiswa : Davina Olivia Az-Zahra
 NIM : 2113353027
 Judul Skripsi : Sensitivitas Methylene Blue Sebagai Alternatif Pewarna DNA Pasien
 Positif Hepatitis B Pada Proses Elektroforesis Agarose
 Pembimbing Pendamping : Nurminha, S Pd ,M Sc

No	Tanggal Bimbingan	Materi Bimbingan	Keterangan	paraf
1.	Jum'at 14 / 2 / 2025	Penulisan Bab 1, 2, 3	Revisi	h
2.	Selasa 18 / 2 / 2025	Penulisan Bab 1, 3 · Tambah materi	Revisi	h
3.	Rabu 19 / 2 / 2025	Penulisan Bab 1, 2, 3 · Penambahan Materi	Revisi	h
4.	Selasa 24 / 3 / 2025	· Penulisan kalimat Bab 1, 2, 3 · Penambahan materi	Revisi	h
5.	Jumat 7 / 3 / 2025	Bab 1, 2, 3	Acc Sampro	h
6.	Rabu 19 / 3 / 2025	Revisi bab 1, 2, 3	Revisi	h
7.	Kamis 10 / 4 / 2025	Acc penelitian	Acc penelitian	h

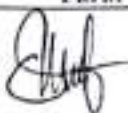
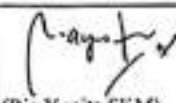
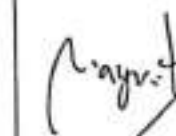
No	Tanggal Bimbingan	Materi Bimbingan	Keterangan	paraf
8.	Selasa, 2 Juni 2025	Konsultasi penelitian	konsultasi	h
9.	Jumat, 13 Juni 2025	-konsultasi data -konsultasi bab ii & iii	Revisi	h
10.	Selasa, 17 Juni 2025	-penulisan bab ii dan iii -konsultasi turnitin	ACC Semhas	h
11.	Jumat 20 Juni 2025	Bab 1-5 Jurnal penelitian.	Revisi setelah Semhas.	h
12.	Senin, 23 Juni 2025	Bab 1-5 Jurnal penelitian. Ace cetak.	Ace Cetak	h

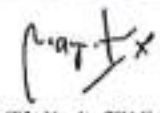
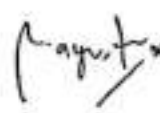
Catatan : Coret yang tidak perlu

Ketua Prodi TLM Program Sarjana Terapan

Nurminha, M.Sc
NIP. 196911241989122001

Logbook Penelitian

No.	Hari/Tanggal/Jam	Kegiatan	Hasil	Paraf
1.	Jumat, 2 Mei 2025 (10.25-10.50)	Memisahkan plasma dari darah EDTA (sentrifuge whole blood di RSP Bintang Amin)	Diperoleh sampel plasma pasien positif Hepatitis B dari RS. Bintang Amin	
2.	Rabu, 7 Mei 2025 (14.00-14.50)	- Persiapan H-1 - Persiapan alat dan bahan - Membuat alkohol 70% (500 ml)	Hasil : Alkohol 70% sebanyak 500 ml	 (Ria Yunita, SKM)
3.	Kamis, 8 Mei 2025 (09.00-14.00)	- Sterilisasi alat - Persiapan sampel - Ekstraksi DNA (D1-D10)	Hasil : - Penambahan RBC lisis buffer 200 μ l lalu di centrifuge 3000 xg selama 5 menit yang terlihat endapan (D9 dan D10) - Sentrifuge 3000 xg selama 5 menit (kedua) terlihat endapan (D9 dan D10) - Sentrifuge ke-3 terlihat endapan di semua cup (D1- D10)	 (Ria Yunita, SKM)
4.	Selasa, 27 Mei 2025 (14.00-16.00)	- Persiapan alat - Pembuatan TAE 1x - Pengenceran Buffer TAE 50x $V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$ $V_1 \times 50 = 250 \times 1x$ $V_1 = 5 \text{ ml} + 245 \text{ ml (Akuades)}$ - Pembuatan Gel Agarose 1,5 % 0.375 gr agarose dilarutkan dengan 25 ml TAE 1x	Hasil : - Buffer TAE 1X sebanyak 250 ml - Gel Agarose (1 gel 16 well, 1 gel 8 well)	 (Ria Yunita, SKM)
5.	Rabu, 28 Mei 2025 08.30-16.00	- Persiapan running PCR (Real-Time) dengan penambahan 30 μ l IC pada D1-D7 (di vortex) - Running Real-Time PCR (D1-D7) - Ct terbaca, Cn terbaca	Hasil Ct D1 : 31.52 D2 : 30.76 D3 : 29.89 D4 : 29.59 D5 : 32.03 D6 : 30.86 D7 : 29.68 Hasil Cn terlampir di lampiran 8	 (Ria Yunita, SKM)
6.	Senin, 2 Juni 2025 (08.00-16.00)	- Pembuatan Gel Agarose 1,5% - Pembuatan Methylen Blue 1% 1 gr Methylen Blue dilarutkan dengan 100 ml akuades - Pembuatan Methylen Blue 0.025% 2,5 ml Methylen Blue stok 1% dalam akuades 100 ml - Running Elektroforesis	Hasil: Kontrol = terlihat jelas (UV) Variasi waktu rendam 10 menit = tidak terbaca 15 menit = tidak terbaca 20 menit = tidak terbaca 25 menit = tidak terbaca	 (Ria Yunita, SKM)

No	Hari/Tanggal/Jam	Kegiatan	Hasil	Paraf
7.	Selasa, 3 Juni 2025 (08.00-16.00)	- Pembuatan gel agarose 1,5% - Running Elektroforesis (ditambah 1 μl loading buffer) - Variasi waktu perendaman (10, 15, 20, 25 menit)	Hasil : 10 menit = Tidak terlihat 15 menit = Terlihat samar 20 menit = Terlihat jelas 25 menit = Terlihat jelas	 (Ria Yunita,SKM)
8.	Rabu, 4 Juni 2025 (08.00-14.00)	- Running Elektroforesis ditambahkan 1 μl loading buffer - Variasi volume 2 μl, 4 μl, 6 μl, 8 μl dalam 1 gel agarose (16 well) - Perendapan dengan hasil waktu terbaik (20 menit)	Hasil : 2 μ l (3 well) = Samar 4 μ l (3 well) = Samar 6 μ l (3 well) = Jelas 8 μ l (3 well) = Jelas	 (Ria Yunita,SKM)

Mengetahui,

Pembimbing Utama



Hartanti, S.Si., M.Si

Pembimbing Pendamping



Nurminha, S.Pd., M.Sc

Sensitivitas Methylene Blue Sebagai Alternatif Pewarna DNA Pasien Positif Hepatitis B Pada Proses Elektroforesis Agarose

Davina Olivia Az Zahra¹, Hartanti², Nurminha³

Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Program Studi Teknologi Laboratorium Medis Program Sarjana Terapan
Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang

Abstrak

Deteksi DNA virus Hepatitis B menggunakan metode elektroforesis gel agarosa membutuhkan pewarna DNA, di mana pewarna umum adalah EtBr bersifat toksik dan membutuhkan sinar UV untuk visualisasi. GelRed merupakan salah satu alternatif yang lebih aman dari EtBr, karena bersifat non-mutagenik dan memberikan fluoresensi tinggi saat diamati di bawah sinar UV. Namun, penggunaannya tetap membutuhkan alat transiluminator UV dan biayanya relatif mahal. Methylene blue dikenal sebagai alternatif yang lebih aman, tidak karsinogenik, dapat diamati menggunakan cahaya tampak, dan lebih ekonomis. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui sensitivitas methylene blue sebagai pewarna alternatif DNA pada sampel pasien positif Hepatitis B. Penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler Poltekkes Tanjungkarang pada Mei-Juni 2025. Penelitian dilakukan secara eksperimental dengan desain Rancangan Acak Lengkap, menggunakan variasi lama waktu pewarnaan (10, 15, 20, dan 25 menit) serta volume sampel (2, 4, 6, dan 8 µL). Hasil penelitian menunjukkan intensitas warna pita DNA tertinggi diperoleh pada lama pewarnaan 20 menit dan volume 8 µL. Uji Kruskal-Wallis menunjukkan adanya perbedaan bermakna antar perlakuan ($p < 0,05$). Dilanjutkan dengan uji sensitivitas dengan melihat perbandingan intensitas warna dengan GelRed. Berdasarkan hasil penelitian, methylene blue lebih sensitive dibandingkan dengan GelRed. Dapat disimpulkan bahwa methylene blue konsentrasi 0,025% sensitif dan efektif sebagai pewarna DNA virus Hepatitis B.

Kata Kunci : Methylene blue, GelRed, Elektroforesis agarosa, Hepatitis B, Sensitivitas.

The Sensitivity Of Methylene Blue As An Alternative DNA Stain For Hepatitis B Positive Patients In Agarose Gel Electrophoresis Process

Abstract

Detection of Hepatitis B virus (HBV) DNA using agarose gel electrophoresis requires the use of DNA stains. Ethidium bromide (EtBr), the most commonly used dye, is toxic and requires ultraviolet (UV) light for visualization. GelRed is considered a safer alternative to EtBr due to its non-mutagenic properties and strong fluorescence under UV illumination. However, its application still necessitates a UV transilluminator and is relatively expensive. Methylene blue is recognized as a safer alternative, being non-carcinogenic, observable under visible light, and more cost-effective. This study aimed to determine the sensitivity of methylene blue as an alternative DNA stain in samples from Hepatitis B-positive patients. The research was conducted at the Molecular Biology Laboratory of Poltekkes Tanjungkarang during May–June 2025. The study was experimental in nature, using a Completely Randomized Design (CRD) with variations in staining duration (10, 15, 20, and 25 minutes) and sample volume (2, 4, 6, and 8 µL). The results showed that the highest DNA band intensity was observed with a staining duration of 20 minutes and a sample volume of 8 µL. The Kruskal–Wallis test indicated significant differences between treatment groups ($p < 0.05$). This was followed by a sensitivity test by comparing band intensities with those of GelRed. Based on the results, methylene blue demonstrated greater sensitivity than GelRed. It can be concluded that methylene blue at a concentration of 0.025% is sensitive and effective as a DNA stain for Hepatitis B Virus.

Keywords: : Methylene Blue, GelRed, Agarose Electrophoresis, Hepatitis B, Sensitivity

Korespondensi: Davina Olivia Az Zahra, Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Program Studi Teknologi Laboratorium Medis, Program Sarjana Terapan, Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang, Jalan Soekarno-Hatta No. 1 Bandar Lampung, *mobile* 089660047600, *e-mail* : davinaolivia2474@gmail.com

Pendahuluan

Hepatitis B masih menjadi tantangan global di bidang kesehatan, dengan sekitar 254 juta orang di dunia hidup dengan infeksi kronis Hepatitis B dan lebih dari satu juta kematian setiap tahunnya, utamanya disebabkan oleh sirosis hati dan karsinoma hepatoseluler (WHO, 2024). Di Indonesia sendiri, data RISKESDAS tahun 2018 menunjukkan lebih dari satu juta penduduk terdiagnosis hepatitis, termasuk lebih dari 3.800 kasus di Kota Bandar Lampung (Kemenkes RI, 2018). Deteksi dini DNA virus Hepatitis B menjadi krusial dalam penanganan kasus infeksi aktif dan dalam upaya pencegahan komplikasi jangka panjang. Salah satu metode deteksi yang memiliki sensitivitas dan spesifisitas tinggi adalah *Polymerase Chain Reaction* (PCR), yang hasilnya kemudian dianalisis menggunakan elektroforesis gel agarosa (Maksum et al., 2019).

Elektroforesis gel agarosa merupakan metode yang umum digunakan untuk memisahkan dan memvisualisasikan fragmen DNA berdasarkan ukurannya. Visualisasi fragmen DNA pasca-elektroforesis memerlukan penggunaan zat pewarna DNA. Etidium bromida (EtBr) merupakan pewarna DNA yang telah lama digunakan karena kemampuannya menghasilkan fluoresensi tinggi saat diaktivasi oleh sinar ultraviolet (UV). Namun, sifat mutagenik dan karsinogeniknya menjadikannya berisiko terhadap kesehatan manusia serta menimbulkan limbah berbahaya yang memerlukan penanganan khusus (Nataprawira, 2022). Oleh karena itu, pencarian alternatif pewarna DNA yang lebih aman, ramah lingkungan, serta ekonomis menjadi urgensi dalam praktik laboratorium molekuler.

GelRed adalah salah satu alternatif yang lebih aman dibandingkan EtBr karena tidak bersifat mutagenik dan tetap memiliki intensitas fluoresensi yang tinggi. Namun, penggunaannya masih memerlukan sinar UV dan peralatan khusus seperti transiluminator, serta harganya tergolong relatif mahal (Merdekawati et al., 2021). Di sisi lain, *methylene blue* muncul sebagai kandidat alternatif pewarna DNA yang menjanjikan. Senyawa ini mampu berinterkalasi ke dalam DNA dan divisualisasikan menggunakan cahaya tampak tanpa memerlukan sinar UV. Selain itu, *methylene blue* tidak bersifat karsinogenik dan memiliki toksisitas yang rendah, sehingga lebih aman dan ekonomis untuk digunakan di berbagai laboratorium, termasuk yang berskala pendidikan atau dengan keterbatasan sumber daya (Nafisi et al., 2006; Rohs, 2012).

Beberapa penelitian telah membuktikan efektivitas *methylene blue* dalam

memvisualisasikan DNA hasil elektroforesis, seperti penelitian oleh Winarti (2017) yang menunjukkan hasil optimal pada DNA yang diwarnai dengan *methylene blue* 0,0125% selama 25 menit. Penelitian lainnya oleh Merdekawati et al. (2021) menggunakan DNA SARS-CoV-2 juga menemukan bahwa konsentrasi *methylene blue* 0,025% dapat menghasilkan pita DNA yang jelas pada kondisi elektroforesis tertentu. Namun, penelitian-penelitian tersebut menggunakan DNA bakteri atau DNA virus non-hepatotropik dan belum banyak yang secara spesifik menguji sensitivitas pewarnaan terhadap DNA virus Hepatitis B yang berasal dari plasma pasien, yang memiliki struktur DNA sirkuler parsial (rcDNA), sehingga kemungkinan memiliki karakter pengikatan pewarna yang berbeda.

Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini dilakukan untuk mengisi kekosongan tersebut, yaitu dengan mengetahui sensitivitas *methylene blue* sebagai alternatif pewarna DNA menggunakan sampel plasma pasien positif Hepatitis B. Variabel yang dikaji meliputi variasi volume sampel (2, 4, 6, dan 8 µL) serta lama kontak pewarnaan (10, 15, 20, dan 25 menit) untuk menentukan kondisi optimal pewarnaan. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan solusi praktis dan aplikatif bagi laboratorium molekuler dalam memilih pewarna DNA yang lebih aman, murah, dan mudah digunakan, khususnya dalam lingkungan pendidikan dan pelayanan kesehatan dengan sumber daya terbatas.

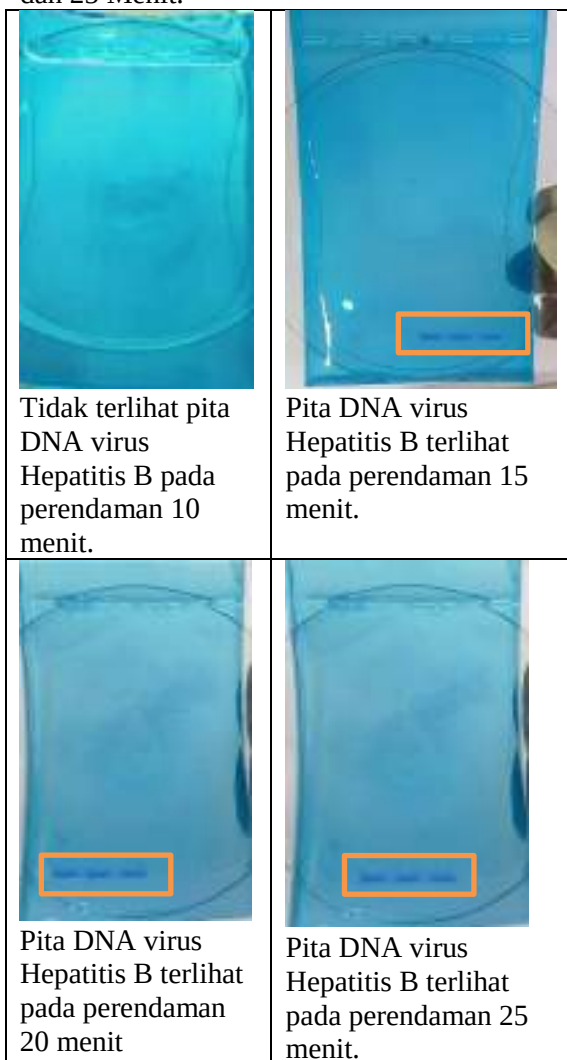
Metode

Jenis penelitian ini adalah eksperimental dengan desain Rancangan Acak Lengkap (RAL). Lokasi penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler jurusan TLM Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang, pada bulan Mei-Juni 2025. Variabel bebas berupa lama waktu kontak *methylene blue* dan variasi volume sampel. Variabel terikat yaitu warna pita HBV DNA. Subjek penelitian adalah *methylene blue* yang digunakan sebagai alternatif pewarna DNA pada proses elektroforesis. Dengan sampel yang digunakan adalah plasma pasien positif Hepatitis B yang diperoleh dari Rumah Sakit Bintang Amin Bandar Lampung. Masing-masing perlakuan dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan. Intensitas warna pita DNA diukur menggunakan *software* Gel Analyzer 23.1.1. Data yang terkumpul selanjutnya dianalisis dengan menggunakan analisis statistik dengan menggunakan analisa univariat dan bivariat. Analisa bivariat dilakukan menggunakan Uji Kuskal Wallis dilanjutkan dengan uji Post hoc

dengan menggunakan aplikasi *Statistical Program For Social Science* (SPSS).

Hasil

1. Intensitas warna pita DNA virus Hepatitis B berdasarkan lama waktu pewarnaan 10, 15, 20 dan 25 Menit.



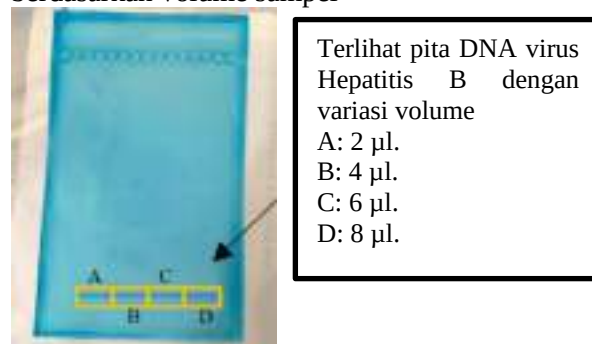
Nilai intensitas pita DNA diukur menggunakan perangkat lunak GelAnalyzer 23.1.1 dan disajikan dalam satuan arbitrary unit (a.u). Hasil pengukuran secara kuantitatif ditampilkan pada Tabel 1.2 berikut:

Tabel 1.1 Intensitas warna pita DNA berdasarkan lama pewarnaan 10, 15, 20 dan 25 menit.

Lama Pewarnaan (Menit)	Intensitas Warna Pita DNA (a.u.)			Rata-Rata
	Pengulangan			
	1	2	3	
10	0	0	0	0
15	114	116	113	114,33
20	134	139	149	140,66
25	144	142	153	146,33

Berdasarkan tabel di atas, perendaman selama 20 dan 25 menit menghasilkan intensitas warna pita DNA yang paling tinggi. Analisis statistik menggunakan uji Kruskal–Wallis menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan ($p = 0,011$). Uji lanjut Mann–Whitney menunjukkan bahwa kelompok 10 menit berbeda secara signifikan dengan ketiga kelompok lainnya, sedangkan tidak terdapat perbedaan bermakna antara perendaman 20 menit dan 25 menit ($p > 0,05$).

2. Intensitas warna pita DNA virus Hepatitis B berdasarkan volume sampel



Nilai intensitas pita DNA diukur menggunakan *software* GelAnalyzer 23.1.1 dan disajikan dalam satuan arbitrary unit (a.u). Hasil pengukuran secara kuantitatif ditampilkan pada Tabel 1.2 berikut:

Tabel 1.2 Intensitas warna pita DNA berdasarkan volume sampel dengan Gel Analyzer 23.1.1

Vol Sampel (µl)	Intensitas Warna Pita DNA (a.u.)			Rata-Rata
	Pengulangan			
	1	2	3	
2	125	126	128	126,33
4	128	130	133	130,33
6	136	138	139	137,67
8	141	143	143	142,33

Hasil pengukuran intensitas menggunakan *software* GelAnalyzer 23.1.1 menunjukkan bahwa rata-rata intensitas warna pita DNA paling rendah tercatat pada volume 2 µL, yaitu sebesar 126,33 a.u., dan terus meningkat hingga mencapai nilai tertinggi pada volume 8 µL, yakni sebesar 142,33 a.u.

Hasil uji normalitas dengan Shapiro–Wilk menunjukkan bahwa data intensitas dari keempat kelompok volume tidak semuanya berdistribusi normal ($p < 0,05$), sehingga dilanjutkan dengan uji non-parametrik Kruskal–Wallis. Hasil uji Kruskal–Wallis menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok volume ($p = 0,008$). Hasil uji post hoc

menunjukkan bahwa volume 8 μL berbeda signifikan dengan volume 2 μL , 4 μL , dan 6 μL ($\text{sig} < 0,05$). Berdasarkan hasil ini, volume 8 μL dapat disimpulkan sebagai volume yang paling baik dalam menghasilkan pita DNA yang jelas saat menggunakan pewarna methylene blue.

3. Perbandingan intensitas Methylene Blue dengan GelRed

Uji sensitivitas dilakukan dengan melihat perbandingan rata-rata intensitas warna pita DNA antara GelRed dan Methylene Blue pada volume sampel 6 μL .

Tabel 1.3 Perbandingan intensitas Methylene Blue dengan GelRed

Pewarna	Intensitas Warna Pita DNA (a.u.)			Rata-Rata
	Pengulangan			
	1	2	3	
GelRed	69	55	38	54
Methylene Blue	136	138	139	137.67

Berdasarkan hasil analisis menggunakan *software* Gel Analyzer 23.1.1, diketahui bahwa rata-rata intensitas warna pita DNA virus dengan menggunakan methylene blue lebih tinggi dibandingkan dengan GelRed, yaitu sebesar 137,67 a.u. Dari hasil analisis yang dilakukan, pita DNA virus Hepatitis B yang diwarnai menggunakan Methylene Blue juga masih dapat terlihat pada volume 2 μL , yang menunjukkan bahwa Methylene Blue memiliki sensitivitas lebih tinggi dibandingkan GelRed.

Pembahasan

Berdasarkan hasil penelitian, visualisasi pita DNA menggunakan methylene blue menunjukkan kejelasan yang sebanding dengan pewarna GelRed. Variasi waktu perendaman dan volume sampel terbukti memengaruhi intensitas serta kejernihan pita DNA virus Hepatitis B yang dihasilkan. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan durasi perendaman optimal yang menghasilkan visualisasi pita DNA virus Hepatitis B terbaik, yang diukur secara kuantitatif menggunakan *software* GelAnalyzer 23.1.1. Hasil analisis menunjukkan bahwa waktu pewarnaan selama 20 menit memberikan hasil visualisasi yang baik berdasarkan data intensitas yang diperoleh.

Pada lama pewarnaan 10 menit, pita DNA virus tidak terlihat, baik secara kasat mata maupun dengan *software* Gel Analyzer 23.1.1. Temuan ini berbeda dengan penelitian Wulandari (2024) yang melaporkan bahwa pita DNA bakteri

dapat terlihat pada durasi pewarnaan yang sama. Perbedaan ini dapat dijelaskan dari beberapa faktor penting, yaitu jenis dan struktur DNA yang digunakan, panjang DNA, serta kuantitas DNA awal. Dalam penelitian ini digunakan DNA virus Hepatitis B (HBV) yang berasal dari plasma pasien. Genom virus HBV memiliki bentuk *relaxed circular* DNA (rcDNA), yaitu DNA sirkuler yang hanya sebagian utasnya berbentuk ganda, sementara sisanya masih utas tunggal (Nassal, 2008). Sebaliknya, Wulandari (2024) menggunakan DNA dari kultur bakteri *Escherichia coli*, yang memiliki bentuk *double-stranded circular* DNA penuh dan panjang genom sekitar 4,6 juta pasangan basa (Durfee et al., 2008).

Selain perbedaan jenis dan struktur DNA, waktu kontak dengan methylene blue juga menjadi faktor penentu tampaknya pita DNA. Decourcy (2013) menyebutkan bahwa waktu optimal pewarnaan methylene blue adalah ≥ 15 menit untuk mendapatkan pita yang tampak jelas. Perendaman gel agarose dalam larutan methylene blue selama 25 menit menghasilkan rata-rata intensitas warna tertinggi. Namun, hasil uji statistik menunjukkan bahwa intensitas warna yang diperoleh pada durasi 20 menit tidak berbeda signifikan dibandingkan durasi 25 menit. Dengan demikian, durasi 20 menit dinilai lebih efisien karena mampu memberikan hasil visualisasi pita DNA yang baik dalam waktu yang lebih singkat tanpa mengurangi kualitas hasil.

Temuan ini konsisten dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Merdekawati (2021) yang menyatakan bahwa durasi optimal untuk pewarnaan menggunakan larutan methylene blue 0,025% pada gel agarose 1,5% adalah selama 20 menit. Dalam penelitiannya, pita DNA virus berukuran 100 bp dan 250 bp berhasil divisualisasikan secara jelas setelah pewarnaan selama 20 menit, yang dilanjutkan dengan proses destaining menggunakan akuades selama 30 menit. Kondisi tersebut menunjukkan kesesuaian dengan metode dan hasil yang diperoleh dalam penelitian ini.

Penelitian ini juga menguji variasi volume yang digunakan, yaitu sebesar 2 μL , 4 μL , 6 μL dan 8 μL . Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh bahwa variasi volume sampel yang digunakan dalam proses elektroforesis berpengaruh terhadap intensitas warna pita DNA yang divisualisasikan menggunakan pewarna methylene blue. Rata-rata intensitas tertinggi diperoleh pada volume sampel 8 μL dengan nilai 142,33 a.u., yang secara statistik juga menunjukkan perbedaan bermakna

dibanding volume lainnya ($p = 0,017$). Hasil ini mengindikasikan bahwa semakin besar volume sampel DNA yang dimasukkan ke dalam sumur gel, maka semakin tinggi pula intensitas pita DNA yang dihasilkan.

Selain itu, teori elektroforesis juga mendukung hasil ini. Menurut Lee et al. (2012) keberhasilan visualisasi pita DNA dalam gel elektroforesis sangat bergantung pada konsentrasi dan volume DNA yang dimuat, di mana terlalu sedikit volume menyebabkan pita terlalu tipis atau tidak tampak, sedangkan volume yang terlalu besar bisa menyebabkan pita menjadi menyebar atau tidak tajam. Dalam penelitian ini, volume 8 μL memberikan hasil yang baik tanpa menimbulkan efek menyebar, yang artinya volume tersebut masih berada dalam rentang ideal untuk visualisasi yang baik menggunakan methylene blue.

Dengan demikian, hasil penelitian ini secara ilmiah menunjukkan bahwa penggunaan volume 8 μL merupakan pilihan paling efektif dalam pewarnaan DNA HBV menggunakan methylene blue 0,025% dengan metode elektroforesis agarose 1,5%. Visualisasi pita DNA virus yang terbentuk jelas dan intens, didukung oleh uji statistik yang signifikan, serta sesuai dengan mekanisme teori interkalasi dan elektrostatis methylene blue terhadap DNA. Temuan ini dapat dijadikan acuan bagi penggunaan methylene blue sebagai alternatif pewarna DNA virus Hepatitis B yang lebih aman, terjangkau, dan efisien di laboratorium biologi molekuler.

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan:

1. Lama waktu pewarnaan dengan methylene blue 0.025% yang optimal untuk pewarnaan DNA virus Hepatitis B hasil elektroforesis adalah 20 menit.
2. Volume sampel yang paling optimal untuk pewarnaan DNA virus Hepatitis B hasil elektroforesis gel agarose adalah 8 μL .
3. Methylene blue sensitive untuk mewarnai DNA pasien positif Hepatitis B pada proses elektroforesis agarose.

Saran

1. Perlu penelitian lebih lanjut untuk membandingkan metode pre-staining (pewarnaan sebelum elektroforesis) dengan metode post-staining (pewarnaan setelah elektroforesis) dengan methylene blue 0.025% guna mengetahui perbedaan efektivitas visualisasi pita DNA virus Hepatitis B.

2. Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk menguji pengaruh variasi waktu destaining terhadap kejernihan pita DNA virus Hepatitis B, agar dapat ditemukan waktu destaining yang lebih singkat namun tetap memberikan hasil visualisasi yang optimal.

Daftar Pustaka

- Agustiningsih. 2020. Pedoman PCR Sars-Cov-2 bagi petugas laboratorium. In Lembaga Penerbit Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan (LPB).
- Asypini, Y. 2019. Substansi Genetika. In Suparyanto dan Rosad (2015 (Vol. 5, Issue 3).
- Decourcy, K., & Tech, V. 2013. Fralin Life Science s Now celebrating educators! August.
- Dewantoro, A; Anggundari, W. C; Nuraeni, U; Prasetya, B; Yopi. 2020. Genomic Molecular Detection Methods and Diagnostic Accuracy in The Development of Clinical Diagnostics in Indonesia. Prosiding PPIS 2020, 207–216.
- Durfee, T; Nelson, R; Baldwin, S; Plunkett, G; Burland, V; et all. 2008. The complete genome sequence of Escherichia coli DH10B: Insights into the biology of a laboratory workhorse. Journal of Bacteriology, 190(7), 2597–2606. <https://doi.org/10.1128/JB.01695-07>
- Fatmawati, & Kepel, B. 2014. Analisis Mutasi Gen Protein X Virus Hbv Pada Penderita Hepatitis B Akut Di Manado. Jurnal LPPM Bidang Sains Dan Teknologi, 1(1), 47–55.
- H.Alnamoly, M; Alzohairy, A. M; El-Henawy, I. M. 2020. A survey on gel images analysis software tools. Journal of Intelligent Systems and Internet of Things, April, 40–47. <https://doi.org/10.54216/jisiot.010103>
- Hall, A. 2020. A comparison of DNA stains and staining methods for Agarose Gel Electrophoresis. BioRxiv, 568253.
- Harahap, M. R. 2018. Elektroforesis: Analisis Elektronika Terhadap Biokimia Genetika. CIRCUIT: Jurnal Ilmiah Pendidikan Teknik Elektro, 2(1), 21–26. <https://doi.org/10.22373/crc.v2i1.3248>
- Hidayat, Meilina. Cindra. P; Decky. G. 2019. Polymerase Chain Reaction (PCR). In Penelitian Biomedik dan Ilmu Kedokteran (Vol. 11, Issue 1, p. 140).
- Huda, T; Yulitaningtyas, T. K. 2018. Kajian Adsorpsi Methylene Blue Menggunakan Selulosa dari Alang-Alang. IJCA (Indonesian Journal of Chemical Analysis),

- 1(01), 9–19.
<https://doi.org/10.20885/ijca.vol1.iss1.art2>
- Intarapanich, A; Kaewkamnerd, S; Shaw, P. J; Ukosakit, K; Tragoonrung, S; Tongsimas, S. 2015. Automatic DNA Diagnosis for 1D Gel Electrophoresis Images using Bio-image Processing Technique. *BMC Genomics*, 16(12), 1–11.
<https://doi.org/10.1186/1471-2164-16-S12-S15>
- Jalaludin, R. 2018. Transmisi Vertikal Virus Hepatitis B Oleh: Syatirah Jalaluddin Editor: Raully Rahmadhani. 1–191.
- Kemenkes RI. 2018a. Laporan Provinsi Lampung Riskesdas 2018. Lembaga Penerbit Balitbangkes.
- Kemenkes RI. 2018b. Laporan Riskesdas 2018 Nasional.pdf. In Lembaga Penerbit Balitbangkes (p. 674).
- Lee, P. Y; Costumbrado, J; Hsu, C. Y; Kim, Y. H. 2012. Agarose gel electrophoresis for the separation of DNA fragments. *Journal of Visualized Experiments*, 62, 1–5.
<https://doi.org/10.3791/3923>
- Maksum, I. P; Sriwidodo, Gaffar, S; Hassan, K; Subroto, T; Soetisojo Soemitro. 2019. Buku Teknik Biologi Molekular. In Alqaprint (Issue September).
- Merdekawati, F; Gustira Rahayu, I; Khoirul Abror, Y. 2021. Methylene Blue As Alternative Dna Staining in Electrophoresis. *Proceeding of the 5th International Conference on Interprofessional Health*, 4(1), 87–92
- Mursyidin, D. H. 2024. Teknik Dasar Biologi Molekular Jilid 1. In ULM Press. ULM Press.
- Nafisi, S; Saboury, A. A; Keramat, N; Neault, J. F; Tajmir-Riahi, H. A. 2006. Stability and structural features of DNA intercalation with ethidium bromide, acridine orange and methylene blue. *Journal of Molecular Structure*, 827(1–3), 35–43.
<https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2006.05.004>
- Nassal, M. 2008. Hepatitis B viruses: Reverse transcription a different way. 134, 235–249.
<https://doi.org/10.1016/j.virusres.2007.12.024>
- Nataprawira, S. 2022. Optimasi Gelred Sebagai Pewarna Dna Dalam Biologi Molekular. *Jurnal Ilmiah Indonesia*, 7(12), 18662–18670.
- Nikmatullah, nurul azmah; Nurlena andalia; adriani; indra taufik sahli, D. (2023). *Biologi Molekular* (Issue October).
- Novel, Sasika S; Sukma, N; Supartini, S. 2010. *Genetika Laboratorium*. CV. Trans Info Media.
- Nurhayati, B. S. D. 2017. *Biologi Sel dan Molekuler*. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 303.
- Pan, D; Zuo, X; Wan, Y; Wang, L; Zhang, J; Song, S; Fan, C. 2007. Electrochemical interrogation of interactions between surface-confined DNA and methylene blue. *Sensors*, 7(11), 2671–2680.
<https://doi.org/10.3390/s7112671>
- Puspitaningrum, R; Adhiyanto, C; Solihin. 2018. *Genetika Molekuler dan Aplikasinya. Genetika Molekuler Dan Aplikasinya*, 75.
- Riwayati, I; Fikriyyah, N; Suwardiyono, S. 2019. Adsorpsi Zat Warna Methylene Blue Menggunakan Abu Alang-Alang (*Imperata Cylindrica*) Teraktivasi Asam Sulfat. *Jurnal Inovasi Teknik Kimia*, 4(2).
<https://doi.org/10.31942/inteka.v4i2.3016>
- Rizki, A; Syahputra, E; Pandia, S; Halimatuddahlia. 2019. Pengaruh Waktu Kontak dan Massa Adsorben Biji Asam Jawa (*Tamarindus indica*) dengan Aktivator H₃PO₄ terhadap Kapasitas Adsorpsi Zat Warna Methylene Blue. *Jurnal Teknik Kimia USU*, 8(2) 54–60.
- Rohs, R; Sklenar, H. 2012. Methylene blue binding to dna with alternating at base sequence: Minor groove binding is favored over intercalation. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 21(5), 699–711.
<https://doi.org/10.1080/07391102.2004.1050696>
- Setyawati, R; Zubaidah, S. 2021. Optimasi Konsentrasi Primer dan Suhu Annealing dalam Mendeteksi Gen Leptin pada Sapi Peranakan Ongole (PO) Menggunakan Polymerase Chain Reaction (PCR). *Indonesian Journal of Laboratory*, 4(1), 36.
<https://doi.org/10.22146/ijl.v4i1.65550>
- Sigmon, J; Larcom, L. L. 1996. The effect of ethidium bromide on mobility of DNA fragments in agarose gel electrophoresis. *Electrophoresis*, 17(10), 1524–1527.
<https://doi.org/10.1002/elps.1150171003>
- Wasdili, F. A. Q; Gartinah, T. 2018. Penentuan Kualitas Isolasi Dna Salmonella Typhimurium Dengan Metode Spektrofotometri Dan Elektroforesis 1 Fini Ainun Qolbi Wasdili 1*), Tintin Gartinah 2. *Prosiding PIN-LITAMAS 1*, 1(1), 578–583.
- WHO. 2024. *Hepatitis B*.
<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-b>

- Winarti, Y. 2017. Optimasi Penggunaan Methylene Blue Sebagai Pengganti Etidium Bromida pada DNA Hasil Elektroforesis Gel Agarose
- Wulandari, Martita Motik. S. 2024. Sensitivitas Pewarna Methylene Blue Sebagai Alternatif Pewarna DNA Pada Elektroforesis Agarose. Skripsi.
- Yulia, D. (2019). Virus Hepatitis B Ditinjau dari Aspek Laboratorium. Jurnal Kesehatan Andalas, 8(4), 247–25

