

ARTIKELL_AMINATUL_FIRDA_p 3i_fix-dikonversi.pdf

by

Submission date: 01-Sep-2021 08:44AM (UTC+0700)

Submission ID: 1639186196

File name: ARTIKELL_AMINATUL_FIRDA_p3i_fix-dikonversi.pdf (437.1K)

Word count: 3442

Character count: 20345

Gene Identification Of Positive Allele In Type 2 Diabetes Mellitus Using A18 Primer

Identifikasi Gen Pada Alel Positif Penanda Diabetes Melitus Tipe II Menggunakan Primer A18

Aminatul Firda¹, Miftahul Mushlih²

Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo

Abstract. Type II Diabetes Mellitus (T2DM) is an abnormality hyperglycemia due to impaired insulin secretion and insulin resistance. The purpose of this study was to identify the genes involved in the positive allele markers of T2DM using primary A18. The research method is descriptive explorative. The sample used was 2 people of T2DM patients from Taman and Balongbendo Sidoarjo and 8 samples of DNA isolation collection in the Molecular Biology Laboratory, University of Muhammadiyah Sidoarjo. Based on the results of sequencing obtained and based on genetic analysis that has been done, identified GATB gene (Glutamyl-tRNA Amidotransferase Sub Unit B) that appears in the positive allele marker T2DM using primary A18, obtained a homologues value "Percentage identity" between the sampel sequences and the sequences data at GenBank NCBI by 80 and 88%. This study hypothesizes that the GATB gene has an association with the T2DM as evidenced by the correlate between the gene and the performance of the mitochondria to produce ATP needed by pancreatic beta cells to produce insulin.

Keywords - Type II Diabetes Mellitus; Gene Identification; A18 Allele; Genetic Analysis; GATB (Glutamyl-tRNA Amidotransferase Sub Unit B).

Abstrak. Diabetes melitus tipe II (DMT2) adalah suatu kelainan yang ditandai dengan adanya hiperglikemia akibat gangguan sekresi insulin dan resistensi insulin. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi gen yang terlibat pada alel positif penanda DMT2 menggunakan primer A18. Jenis penelitian ini ialah deskriptif eksploratif. Sampel yang digunakan sebanyak 2 sampel pasien DMT2 dari desa Taman dan Balongbendo Sidoarjo dan 8 sampel koleksi isolasi DNA di Laboratorium Biologi Molekuler Universitas Muhammadiyah Sidoarjo. Berdasarkan hasil sequencing yang diperoleh dan berdasarkan analisa genetik yang telah dilakukan, teridentifikasi gen GATB (Glutamyl-tRNA Amidotransferase Sub Unit B) yang muncul pada alel positif penanda DMT2 menggunakan primer A18 diperoleh nilai homologi "percentage identity" antara sekuen sampel dengan data sekuen di GenBank NCBI sebesar 80 dan 88%. Penelitian ini berhipotesis bahwa gen GATB memiliki keterkaitan terhadap munculnya DMT2 yang dibuktikan dengan adanya hubungan antara gen tersebut dengan kinerja mitokondria untuk memproduksi ATP yang diperlukan sel beta pankreas dalam memproduksi insulin.

Kata Kunci - Diabetes Melitus Tipe II; Identifikasi Gen; Alel A18; Analisa Genetik, gen GATB (Glutamyl-tRNA Amidotransferase Sub Unit B).

I. PENDAHULUAN

Diabetes Melitus merupakan penyakit metabolisme yang ditandai dengan meningkatnya kadar glukosa dalam darah melebihi batas normal. Menurut International Diabetes Federation (2019)^[1], terdapat sekitar 463 juta orang dewasa (usia 20-79 tahun) menderita Diabetes Melitus dan diperkirakan pada tahun 2024 penderita diabetes melitus akan meningkat menjadi 700 juta jiwa. Diabetes Melitus Tipe II adalah suatu kelainan metabolik yang ditandai dengan adanya hiperglikemia akibat gangguan sekresi insulin dan resistensi insulin Diabetes Melitus Tipe II sendiri bisa disebabkan karena genetik dan juga gaya hidup atau lingkungan.

Analisa genetik penanda Diabetes Melitus Tipe II ini dibutuhkan untuk mengetahui keterlibatan genetik sebagai faktor resiko penyakit Diabetes Melitus Tipe II yang berguna untuk strategi pencegahan terhadap keturunan penderita Diabetes Melitus Tipe II sehingga faktor-faktor pemicu penyakit dapat dihindari sejak dini. Dalam penelitian Zahid (2011)^[2], melakukan analisis untuk menemukan penanda DNA yang terkait dengan Diabetes Melitus Tipe II dengan menggunakan 16 primer (A10, A13, A18, C5, C19, E2, E7, E13, F13, N16, O20, R1, R2, R3, dan R4) dengan metode PCR-RAPD. Didapatkan hasil pada primer A18 menghasilkan pita DNA polimorfik dan memiliki nilai diskriminatif sebesar 25%. Hal ini menandakan bahwa primer A18 merupakan primer yang dapat menunjukkan polimorfisme.

Penelitian Sari (2020) mampu menganalisis perbedaan polimorfisme pada penderita Diabetes Melitus Tipe II dengan menggunakan metode RAPD (Sari, 2020)^[3]. Didapatkan perbedaan signifikan antara sampel Diabetes Melitus Tipe II dengan non Diabetes menggunakan primer A18 menghasilkan beberapa fragmen yang berbeda, itu terlihat polimorfisme pada panjang band 319 (p: 0.035) bp dan 18434 (p: 0.004) bp dengan p value <0.05. Metode RAPD tidak menunjukkan gen yang terlibat, sehingga gen yang spesifik belum dapat diketahui. Oleh karena itu, pada penelitian kali ini bertujuan untuk menganalisis lebih lanjut agar dapat mengidentifikasi gen apa yang terlibat pada alel positif penanda Diabetes Melitus Tipe II yaitu pada band 319 bp menggunakan primer A18 metode sequencing DNA. Metode sequencing merupakan proses untuk menerjemahkan basa nukleotida yang berada di sepanjang DNA, yaitu DNA target atau DNA marker, sehingga nantinya akan didapatkan data yang spesifik serta akan didapatkan ketepatan gen yang terkait

II. METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan desain deskriptif eksploratif yang dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, sedangkan untuk proses *sequencing* di Genetika Science Indonesia kota Tangerang. Sampel yang digunakan adalah 2 sampel darah penderita Diabetes Melitus Tipe II dari desa Taman dan Balongbendo Sidoarjo, dan 8 sampel koleksi isolasi DNA yang memiliki penanda molekuler pada band 319 bp di Laboratorium Biologi Molekuler Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Sidoarjo. Teknik pengambilan sampel dengan menggunakan teknik *Purposive Sampling* dengan menggunakan kriteria khusus yaitu penderita diabetes melitus tipe II yang dibuktikan dengan surat dokter, pasien bersedia sebagai subjek penelitian, dan sampel hasil isolasi DNA penderita Diabetes Melitus Tipe II dengan penanda molekuler pada band 319 bp.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi sampel darah pasien Diabetes Melitus Tipe II, koleksi isolasi DNA di Laboratorium Biologi Molekuler Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, aquades, Gene Aid DNA Isolation Kit (RBC Lysis Buffer, GB Buffer, etanol absolut 96%, *W1 buffer*, *wash buffer*, *elution buffer*), PCR mix, DNA *template*, Primer A18, dan ddH₂O, bubuk gel agarosa, Etidium Bromide (EtBr), Buffer Trish Borat (TBE), *Loading Dye*, *marker* (100-1000 bp *ladder marker*).

Pengambilan sampel penderita Diabetes Melitus Tipe II dilakukan dengan cara makrosampling pada pembuluh darah vena, darah diambil sebanyak 3cc. sampel darah yang sudah disiapkan dilakukan proses isolasi DNA untuk didapatkan DNA murni dengan menggunakan Genomic DNA Mini Kit Blood dengan protokol standart GeneAid. Kemudian dilakukan pengukuran kualitas DNA secara kualitatif dengan menggunakan elektroforesis gel agarosa 2% yang kemudian divisualisasikan dengan menggunakan uv transiluminator untuk dilihat pita DNA nya. Setelah itu dilakukan uji kualitas DNA secara kuantitatif dengan menggunakan spektrofotometer UV *Vis Double Beam* untuk didapatkan konsentrasi dan kemurnian DNA hasil isolasi. Proses PCR dilakukan dengan volume total 35 μ L dengan komposisi 5 μ L DNA genom, 3 μ L primer A18 (5'- AGGTGACCGT-3'), 9 μ L ddH₂O, dan PCR mix 18 μ L. Proses PCR RAPD dilakukan dengan menggunakan Biorad T100 thermocycler dengan pengaturan program reaksi PCR meliputi, pre- denaturasi 95°C selama 5 menit; denaturasi 95°C 1 menit; *annealing* 36°C selama 1 menit; *elongasi* 72°C selama 2 menit; dan *post elongasi* 72°C selama 2 menit sebanyak 45 siklus. Produk PCR kemudian dilakukan proses elektroforesis gel agarosa 2% untuk diketahui band target nya yaitu pada band 319 bp. Selanjutnya dilakukan perhitungan untuk memperoleh band target dengan menggunakan Ms.Excel. Hasil pita DNA target dilakukan proses *sequencing* untuk dilakukan penerjemahan basa nukleotida yang kemudian dilakukan pencarian kesamaan urutan DNA (*homology alignment*) dengan gen yang terkait diabetes melitus tipe II dengan menggunakan BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) pada data *GenBank* dalam *National Center for Biotechnology Information* (NCBI).

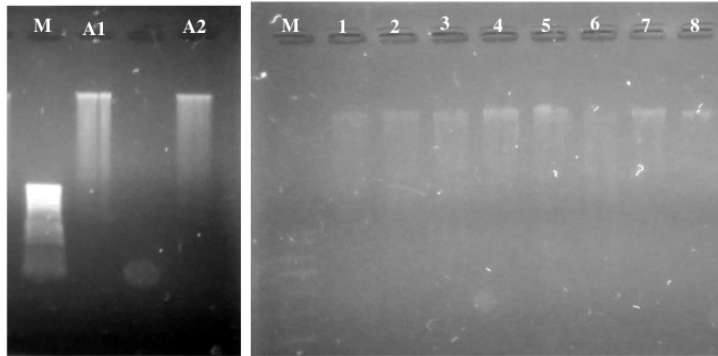
III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Identifikasi Alel

Sampel darah penderita diabetes melitus tipe II didapatkan dari pasien penderita diabetes melitus tipe II dari desa Taman dan Balongbendo sebanyak 2 sampel dan 8 sampel koleksi isolasi DNA di Laboratorium Biologi Molekuler Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Sidoarjo. Pengambilan sampel berdasarkan kriteria yang sudah diatur oleh peneliti yaitu responden telah terdiagnosa diabetes melitus tipe II yang dibuktikan dengan surat dokter. Identitas responden dipaparkan pada tabel 1 berikut

Kode Responden	Usia	Jenis Kelamin	Gula Darah Sewaktu/ Acak (mg/dL)
A1 (sampel baru)	55	Perempuan	342
A2 (sampel baru)	66	Laki- laki	136
13(Q)	59	Perempuan	225
F2	54	Laki- laki	180
F8	59	Laki- laki	220
F6	48	Perempuan	212
2(4)	53	Perempuan	193
10(Q)	50	Laki- laki	235
14(Q)	52	Laki- laki	434
F(4)	72	Laki- laki	191

Sampel *whole blood* dilakukan proses isolasi menggunakan protokol GeneAid yang meliputi tahap pelisisan sel, presipitasi atau pengendapan, dan tahap elusi DNA. Setelah didapatkan DNA murni dilakukan proses elektroforesis gel agarosa untuk mengetahui kualitas DNA secara kualitatif dengan memastikan adanya DNA pada hasil isolasi (DNA *template*).



Gambar 1. Hasil Visualisasi Elektroforesis

Keterangan : A1= sampel kode A1; A2= sampel kode A2; 1= F2; 2= F4; 3= F6; 4= F8; 5=10Q; 6= 2(4); 7= 13Q; 8= 14Q; M= Marker

Gambar 1 hasil visualisasi pada sampel A1, A2, F2, F4, F6, F8, 10Q, 2(4), 13Q, 14Q terlihat pita DNA yang menandakan hasil isolasi sudah benar dan dapat dilakukan uji selanjutnya. Namun hasil masih terlihat *smear* atau noda yang terbentuk karena adanya kontaminasi, terjadinya degradasi atau fragmentasi DNA pada saat isolasi (Suparnintyas et al., 2018) [4]. Dalam Septiaputri, et al (2020) [5] Lin, et al. menyatakan bahwa kualitas dan kuantitas DNA dipengaruhi oleh proses pengolahan nya yakni proses isolasi DNA. Kualitas DNA yang rendah menandakan bahwa masih adanya komponen lain selain DNA pada hasil DNA *template*. Namun hasil elektroforesis tersebut sudah cukup menandakan keberadaan DNA pada sampel hasil isolasi.

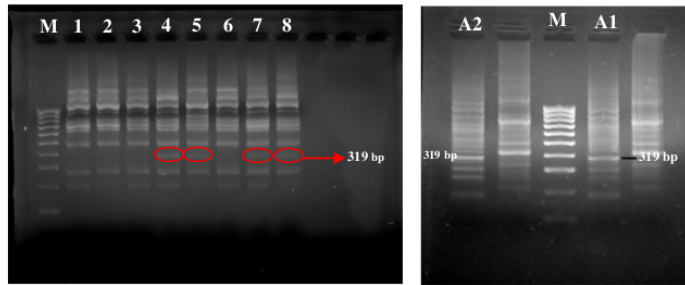
Selanjutnya penentuan kualitas DNA secara kuantitatif dengan menggunakan spektrofotometer UV Vis *Double Beam*. Sampel dianalisis dengan menggunakan panjang gelombang 260 nm dan 280 nm.

Tabel 2 Hasil Uji Kuantitatif DNA

Kode Sampel	A($\lambda=260$ nm)	A($\lambda=280$ nm)	Konsentrasi DNA (ng/ μ L)	Kemurnian
A1	0,570	0,378	256,568	1,507
A2	0,582	0,378	261,843	1,541
13(Q)	0,384	0,234	173,006	1,64
F2	0,448	0,294	201,495	1,522
F8	0,676	0,449	304,044	1,505
F6	1,304	1,087	586,817	1,2
2(4)	0,535	0,327	240,894	1,639
10Q	0,621	0,411	279,303	1,508
14Q	0,87	0,544	391,566	1,598
F4	0,615	0,426	276,77	1,443
Rata-rata			297,23	1,5103

Berdasarkan Tabel 2, didapatkan rata-rata nilai konsentrasi sampel sebesar 297,23 ng/ μ L, banyak atau sedikitnya konsentrasi DNA dipengaruhi oleh rusaknya DNA pada saat isolasi atau adanya kontaminasi (Healey et al., 2014) [6]. Syarat konsentrasi DNA yang baik yaitu minimal 50 ng/ μ L, hal ini menandakan bahwa hasil konsentrasi DNA yang diperoleh telah memenuhi syarat. Nilai kemurnian yang baik adalah yang memiliki nilai perbandingan A260/A280 berkisar antara 1,8- 2,0. Dalam Tabel 2, diperoleh rata-rata kemurnian DNA sebesar 1,5103, hal ini berarti DNA yang telah diperoleh masih terdapat kontaminasi berupa protein yang dibuktikan dengan didapatkan perbandingan nilai absoransi kurang dari 1,8. Adanya kontaminasi dipengaruhi pada saat proses isolasi DNA, baik saat proses pelisisan sel ataupun pada saat ekstraksi. Dengan hasil kemurnian tersebut, DNA hasil isolasi masih bisa digunakan untuk proses selanjutnya, yaitu proses PCR-RAPD (*Polymerase Chain Reaction- Random Amplified Polymorphic DNA*) karena pada proses PCR-RAPD tersebut tetap akan melakukan amplifikasi atau perbanyak DNA oleh primer A18 walaupun dengan kemurnian yang rendah (Suparnintyas et al., 2018).

Proses PCR-RAPD (*Polymerase Chain Reaction-Random Amplified Polymorphic DNA*) menggunakan primer A18 dengan urutan nukleotida 5'-AGGTGACCGT-3'. Hasil proses PCR berupa pita DNA yang divisualisasikan dengan menggunakan uv transiluminator.



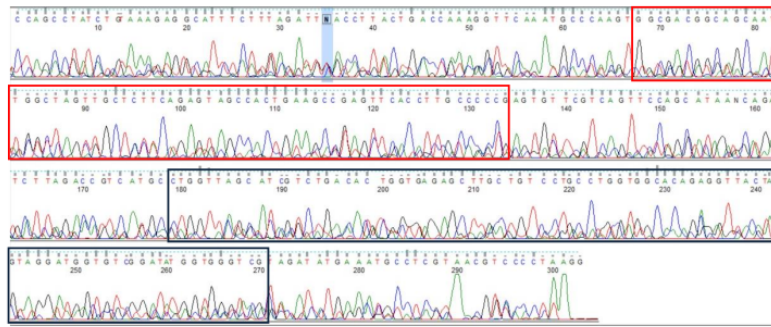
Gambar 2. Hasil Visualisasi Elektroforesis Pita DNA Produk PCR Primer A18

Keterangan : M = Marker DNA Ladder 100-1000 bp; A1 = Sampel kode A1; A2 = Sampel kode A2; 1= 13(Q); 2 = F2; 3= F8; 4= F6; 5= 2(4); 6= 10Q; 7= 14Q; 8= F4

Gambar 2 terlihat pita DNA produk PCR pada 8 sampel koleksi isolasi lebih samar daripada pita DNA yang terlihat pada sampel A1 dan A2 (sampel baru). Hal ini bisa terjadi karena sampel yang disimpan terlalu lama. Oleh karena itu, maka 8 sampel isolasi DNA tersebut tidak dilakukan proses lanjutan untuk *sequencing*.

B. Analisis Sekuen

Sequencing DNA dilakukan dengan melakukan pemotongan *band* target 319 bp untuk kemudian diterjemahkan basa nukleotidanya. Hasil *sequencing* berupa kromatogram dilakukan proses *editing* ke dalam format fasta lalu dilakukan pencarian kesamaan gen (*Homology Alignment*) di BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) pada *GenBank* NCBI (*National Center For Biotechnology Information*).



Gambar 3 Kromatogram hasil *Sequencing* sampel A1 Primer A18

Ket : = sekuen nukleotida yang dilakukan pemotongan/ editing pada wilayah *peak* 70-130; = sekuen nukleotida yang dilakukan pemotongan/ editing pada wilayah 180-270

Kromatogram sampel A1 (Gambar 3) dilakukan *editing* pada dua wilayah *peak* yaitu antara 70-130 dan pada wilayah 180-270. Pemilihan wilayah tersebut dilakukan berdasarkan kualitas *peak* yang didapatkan, yaitu yang memiliki *peak* lebih tertata dan tidak timpang tindih serta memiliki puncak yang tinggi (tidak landai) dan saling terpisah dengan yang lain.

Wilayah Sekuen	Description	Max Score	Total Score	Query Convergence	e-value	Percentage of identity	Accession
70-130	Homo sapiens chromosom 4, GRCH 38.P13	71,6	71,6	81%	4e-11	88,89%	NC_000001.2
180-270	Homo sapiens chromosom 4, GRCH 38.P13	45,4	45,5	58%	0,009	80,00%	NC_000001.2

Gambar 4 Hasil keselarasan urutan basa yang signifikan antara sekuen sampel penelitian dan sekuen dari data *GenBank*.

Berdasarkan Gambar 4 menjelaskan bahwa sekuen sampel A1 memiliki kemiripan dengan gen GATB (Glutamyl-tRNA Amidotransferase Sub Unit B). Total *score* merupakan jumlah dari nilai yang diperoleh dari sekuen yang memiliki kesamaan (Bagus et al, 2019) [7]. Dari hasil *score* tersebut didapatkan sebesar 71,6 untuk wilayah sekuen 70-130, hal ini menandakan bahwa hasil BLAST pada sekuen sampel tersebut *reliable* karena memiliki total *score* lebih dari 50 (Suyono, 2010)^[8]. Sedangkan untuk total *score* pada wilayah sekuen 70-130

didapatkan sebesar 45,4. *Query converence* merupakan nilai presentase sekuen yang memiliki kesamaan ketika disejajarkan dengan data sekuen di *GenBank* (Bagus et al., 2019). Pada sekuen sampel ini didapatkan nilai *query converence* masing- masing wilayah sekuen sebesar 81% dan 58%. Selanjutnya didapatkan nilai *percentage of identity* masing- masing sebesar 88,89% dan 80%, dari hasil tersebut dapat diartikan bahwa hasil *reliable*. Batas nilai dikatakan memiliki kemiripan adalah jika nilai % identitasnya tidak kurang dari 25% (Suyono, 2010). Dalam Ihsan, et al (2020)^[9] & Sabbathini, et al. menyatakan bahwa semakin tinggi nilai *e-value* maka semakin rendah pula tingkat kesamaan antar sekuen, begitupun sebaliknya. Dalam hasil BLAST pada wilayah sekuen 70-130 diperoleh nilai *e-value* 4e-11, hal tersebut menunjukkan nilai yang rendah artinya hasil penajajaran identik. Sedangkan pada wilayah sekuen 180- 270 diperoleh nilai *e-value* 0,009, hal ini menunjukkan hasil penajajaran dengan hasil BLAST semakin signifikan karena memiliki nilai mendekati 0,0 (Ihsan et al., 2020).

C. Hubungan Gen Glutamyl-tRNA Amidotransferase Sub Unit B (GATB) dengan Diabetes Melitus Tipe II

GATB merupakan gen yang terletak pada kromosom 4, GRCH 38.P13 dengan lokasi gen 4q31.3, dengan panjang 2369 pasang basa (bp) dan merupakan tipe gen pengkode protein. Gen GATB memiliki fungsi untuk pembentukan ATP, aktivitas sintesis glutamyl-tRNA dan sintesis protein. GATB merupakan sub unit dari Glutamyl-tRNA Amidotransferase yang memiliki aktivitas kinase yang bergantung pada tRNA (Nagao et al., 2009)^[10].

Gen GATB (Glutamyl-tRNA Amidotransferase sub unit B) merupakan produk dari genosom yang berfungsi untuk melakukan sintesis glutamyl-tRNA yang digunakan untuk mengisi molekul mt-tRNA spesifik pada proses translasi mitokondria. Jika terjadi mutasi gen GATB maka akan terjadi kegagalan sintetase glutamyl mt-tRNA (mt-tRNA Glu) yang nantinya dapat menyebabkan gangguan translasi mitokondria yang pada akhirnya akan berpengaruh terhadap sintesis protein rantai respirasi sistem OXPHOS (Webb et al., 2020)^[11]. Pada penelitian Nagao, et al. (2009) menyatakan bahwa gen GATB memiliki peranan penting dalam proses translasi mitokondria. Gangguan sintetase glutamyl t-RNA pada penelitian Webb, et al. (2020) tersebut dapat menyebabkan kardiomiopati dan asidosis laktat. Sedangkan pada penelitian lain, yaitu penelitian Friederich, et al. (2018)^[12], terdapat sembilan pasien kardiomiopati memiliki glutamyl-tRNA yang rusak.

Berdasarkan penelitian ini, telah ditemukan gen GATB (Glutamyl-tRNA Amidotransferase Sub unit B) pada alel positif penanda Diabetes Melitus Tipe II menggunakan Primer A18. Penelitian ini berhipotesis bahwa terdapat keterkaitan gen GATB terhadap pembentukan ATP yang diperlukan oleh sel beta pankreas dalam memproduksi insulin. Karena secara umum, jika gen GATB mengalami mutasi, maka akan menyebabkan terjadinya kegagalan sintetase glutamyl-tRNA yang kemudian dapat menyebabkan gangguan translasi mitokondria. Apabila terdapat cacat translasi mitokondria, maka akan mengganggu aktivitas kompleks rantai respirasi dalam proses fosforilasi oksidatif (OXPHOS), sehingga terjadi gangguan pada pembentukan ATP mitokondria. Jika produksi ATP terdapat gangguan maka mitokondria tidak akan memproduksi ATP, hal ini akan berpengaruh buruk pada sel beta pankreas. Karena pada dasarnya mitokondria merupakan sumber ATP bagi sel beta pankreas dalam memproduksi insulin (Yuliana, 2012)^[13]. Polimorfisme nukleotida tunggal (SNP) pada DNA mitokondria akan menyebabkan beberapa gangguan kompleks. Gangguan mitokondria dapat dikatakan sebagai penyebab paling signifikan penyakit metabolisme dan degeneratif, penuaan dan kanker (Azizah, 2020)^[14].

Namun keterkaitan gen GATB dengan Diabetes Mellitus Tipe II masih belum ada penelitian lebih lanjut. Hal ini dikarenakan belum ada penelitian tentang deteksi mutasi gen GATB pada beberapa titik mutasi tertentu, karena mutasi pada titik yang berbeda dalam tRNA mitokondria yang sama dapat mengakibatkan penyakit yang berbeda pula. Misalnya terjadi mutasi titik m.14709T > C pada gen MTTE (gen yang mengkode glu tRNA mitokondria) dapat menyebabkan Diabetes Mellitus dan tuli. Sedangkan mutasi pada titik m.14674T > G atau m. 14674T > C pada gen MTTE menyebabkan miopati mitokondria (Webb et al., 2020).

IV. KESIMPULAN

Ditemukan gen GATB (Glutamyl-tRNA Amidotransferase Sub Unit B) sebagai gen yang teridentifikasi pada alel positif penanda Diabetes Melitus tipe II menggunakan Primer A18. Penelitian ini berhipotesis bahwa gen GATB (Glutamyl-tRNA Amidotransferase Sub Unit B) memiliki keterkaitan terhadap munculnya Diabetes Mellitus tipe II. Hal ini dibuktikan dengan adanya hubungan kompleks antara gen tersebut dengan pembentukan ATP oleh mitokondria. Terjadinya mutasi pada gen GATB akan memberikan gangguan kompleks pada mitokondria yang akhirnya berdampak pada gangguan dalam pembentukan ATP yang merupakan komponen yang diperlukan sel beta pankreas dalam memproduksi insulin.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih saya ucapkan kepada Laboratorium Biologi Molekuler Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Sidoarjo yang telah menyediakan fasilitas dan segala aspek didalam nya dalam mendukung berjalannya proses penelitian ini. Serta saya ucapkan Terima Kasih kepada semua responden yang telah bersedia dijadikan sebagai subjek penelitian, dan terima kasih kepada seluruh pihak yang membantu dalam kelancaran penelitian ini.

REFERENSI

- [1] International Diabetes Federation.(2019). IDF Diabetes Atlas Ninth edition 2019.Belgia :*Avenue Herrmann-Debroux* 54 B-1160 Brussels
- [2] Zahid, R.A., Bilal, K. M., Baydaa, A. Abd. (2011). Molecular Investigation of Genetic Polymorphisms in Type 2 Diabetic Patients Using Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD-PCR). *Iraqi Journal of Cancer and Medical Genetics*, 4(2), 47-5. Retrieved from <https://www.iasj.net/iasj?func=fulltext&aId=56172>
- [3] Sari, F. K. (2020).Analisa Polimorfisme Pada Penderita Diabetes Melitus Tipe II Menggunakan Metode Random Amplified Polimorphic DNA Berdasarkan Primer R4, D20 dan A18 (Undergraduate's thesis).Universitas Muhammadiyah Sidoarjo
- [4] Suparningtyas J.F., Okky D. P., Devit P., Teuku T. (2018). Phylogenetic Analysis of Rubber Tree Clones Using AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) Marker. *Jurnal Bioteknologi dan Biosains Indonesia (JBBI)*, 5(1):8. <https://doi.org/10.29122/jbbi.v5i1.2544>
- [5] Septiaputri A. A., Giri R. B., Muh.Alsere B. S., Rahma D.A., Nadia F., ... , Asadatuun A. (2020). Comparison of DNA Isolation Methods For Fresh and Processed Seafood. *Indonesian Fisheries Processing Journal*, 23(3). <https://doi.org/10.17844/jfppi.v23i3.32314>
- [6] Healey A., Agnelo F., Tal C., Robert J.H. (2014). Protocol : A Simple Method for extracting Next- Generation Sequencing Quality Genomic DNA From Recalcitrant Plant Species. *Plant Methods*, 10(21). <https://doi.org/10.1186/1746-4811-10-21>
- [7] Bagus I. W., Wirawan P. G. I., Adiartayasa W.I. (2019). Analisis Homologi Fragmen DNA CVPD dari Jeruk Kinkit *Trophasia trifolia* Menggunakan BLAST Protein Dan BLAST Nukleotida. *Jurnal Agroteknologi Tropika*, Vol 8 No. 4, 381-387, Retrieved from <https://ojs.unud.ac.id/index.php/JAT/article/view/54479>
- [8] Suyono, yoyon. (2010). Determination of Pseudomonas Bacteria Spesies and Analysis of Phylogenetic Tree using Bioinformatics Method. *Jurnal Biopropal Indonesia*, Vol 9 No.2, Retrieved from <http://lib.kememperin.go.id/neo/detail.php?id=178667>
- [9] Ihsan N.Y., Fellatami K., Permana R., Mulyani Y., Pribadi K. D.T. (2020). Analysis of Bacteria in The Reduction of The Concentration of Lead Metal Pb(CH3COO)2 Using Gen 16S Rrna. *Indonesian Journal of Merine Science and Technology*, Vol 13 No.2, 2476-9991. <https://doi.org/10.211107/jk.v13i2.7285>
- [10] Nagao, A., Suzuki, T., Katoh, T., Sakaguchi, Y., Suzuki, T., (2009). Biogenesis of Glutaminyl-mt tRNA Gln in Human Mitochondria. *Proceedings of the National Academy os Sciences of the United States of America*, Vol 106 No.38 113-8656. <https://doi.org/10.1073/pnas.0907602106>
- [11] Webb, D. B., Diaz, A. G., Prasun, P., (2020). Mitochondrial Translation Defect and Human Disease. *National Library of Medicine NCBI*, Vol 4, 71-80, <https://doi.org/10.20517/jtgg.2020.11>
- [12] Friederich, W. M., Timal, S., Powell, A. C., Dallabona, C., Kurolap, Zambrano, P.S. (2018). Pathogenic Variants in Glutamyl-tRNA Gln Amidotransferase subunits Cause a Lethal Mitochondrial Cardiomyopathy Disorder. *National Library of Medicine*, Vol 9 No.1. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-06250-w>
- [13] Yuliana, Dewi. (2012). Kajian Mutasi Gen Pada DNA Mitokondria (mtDNA) Sebagai Predisposisi Diabetes Mellitus. *As-Syifaa Jurnal Farmasi*. Vol 4 NO 1, Retrieved from <https://jurnal.farmasi.umi.ac.id/index.php/as-syifaa/article/view/146>
- [14] Azizah, I.M. (2020). Penyakit Mitokndria: Review. *Research Gate Universitas Padjajaran*. Retrieved from https://www.researchgate.net/publication/346678225_Penyakit_Mitokondria_Review

ORIGINALITY REPORT

9%

SIMILARITY INDEX

2%

INTERNET SOURCES

0%

PUBLICATIONS

8%

STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1

Submitted to Arab Academy for Science,
Technology & Maritime Transport CAIRO

Student Paper

8%

2

idoc.pub

Internet Source

2%

Exclude quotes On

Exclude matches < 2%

Exclude bibliography On