



## **Deteksi Mutasi A3243G MTDNA pada Penderita Diabetes Melitus Tipe 2 Menggunakan PCR Allele's Specific Amplification (PASA)**

**Windi Lestari<sup>1</sup>, Kasmuddin<sup>2</sup>, A. Meinard Dwi Rantisari T<sup>3</sup>, Adriandy Saleh<sup>4</sup>**

<sup>1,2</sup>Program studi DIV Teknologi Laboratorium Medis Fakultas Teknologi Kesehatan, Universitas Megarezky

<sup>3</sup>Program Studi S1 Farmasi Fakultas Teknologi Kesehatan, Universitas Megarezky

<sup>4</sup>Program Studi S1 Pendidikan Dokter, Universitas Bosowa

Email: <sup>1</sup>windilamalanto4@gmail.com, <sup>2</sup>kasmuddindarmo@unimerz.ac.id,

<sup>3</sup>meinardwirantisari@unimerz.ac.id, <sup>4</sup>adriandy.saleh@universitasbosowa.ac.id

### **Abstract**

*Type 2 diabetes mellitus is one of the most common metabolic disorders caused by a combination of two main factors: impaired insulin secretion by pancreatic  $\beta$  cells and the inability of insulin-sensitive tissues to respond properly to insulin. The genetically predisposed from of diabetes known as type 2 diabetes mellitus produce the ATP required for the secretory process. An A to G mutation at the 3243-nucleotide position of mitochondrial DNA tRNA<sup>Leu</sup> gene is associated with damage. Maternally Inherited Diabetes and Deafness (MIDD), which was identified as the cause of the mutation, the Allele's Specific Amplification (PASA) PCR method was chosen because it had not been widely used by other researchers and to increase detection accuracy because the A3243G mtDNA mutation is a heteroplasmic mutation. The aim of the research was to detect the A3243G mtDNA mutation in type II diabetes mellitus patients by using Allele's Specific Amplification (PASA) PCR. This type of qualitative descriptive research. The result showed the appearance of a 200 bp band in 10 out of 15 samples amplified with D1/DN primer pairs for normal mtDNA and D1/DMt primer pairs.*

**Keywords:** Type 2 Diabetes Mellitus, A3243G mtDNA Mutation, PCR Allele's Specific Amplification (PASA)

### **Abstrak**

Diabetes Melitus Tipe 2 merupakan salah satu gangguan metabolisme yang paling umum disebabkan oleh kombinasi dari dua faktor utama: sekresi insulin yang rusak oleh sel  $\beta$  pankreas dan ketidakmampuan jaringan yang peka terhadap insulin untuk merespons insulin dengan tepat. Bentuk diabetes yang cenderung genetik dikenal sebagai diabetes melitus tipe 2 menghasilkan sekresi untuk menghasilkan ATP yang diperlukan untuk proses sekresi. Mutasi A ke G pada posisi nukleotida ke-3243 dari gen tRNA<sup>Leu</sup> DNA mitokondria dikaitkan dengan kerusakan. Maternally Inherited Diabetes and Deafness (MIDD), yang diidentifikasi sebagai penyebab mutasi, Metode PCR Allele's Specific Amplification (PASA) dipilih karena belum banyak digunakan oleh para peneliti lain serta untuk meningkatkan akurasi deteksi karena mutasi A3243G mtDNA merupakan

mutasi heteroplasm. Tujuan penelitian adalah untuk mendeteksi mutasi A3242G mtDNA pada penderita diabetes mellitus tipe II menggunakan PCR Allele's Specific Amplification (PASA). Jenis penelitian Deskriptif Kualitatif. Hasil penelitian menunjukkan munculnya pita ukuran 200 pb pada 10 sampel dari 15 sampel yang diamplifikasi dengan pasangan primer D1/DN untuk mtDNA normal dan pasangan primer D1/DMt.

**Kata Kunci :** Diabetes Melitus tipe 2, Mutasi A3243G mtDNA, PCR Allele's Specific Amplification (PASA)

## PENDAHULUAN

Diabetes melitus (DM) merupakan sekelompok penyakit metabolik yang ditandai dengan hiperglikemia atau suatu kondisi tubuh ketika kadar glukosa dalam darah lebih tinggi, hal tersebut disebabkan oleh gangguan sekresi insulin, kerja insulin, atau keduanya. Patologi terjadinya diabetes melitus dihubungkan dengan beberapa efek salah satu efek utama dengan kekurangan insulin yaitu kurangnya penggunaan glukosa oleh sel tubuh, serta kekurangan protein dalam jaringan tubuh (Roden et al., 2019).

Menurut World Health Organization (WHO) bahwa penyakit Diabetes Melitus masuk dalam ranking ke enam penyebab kematian di dunia, selain itu World Health Organization (WHO) mengungkapkan bahwa kematian akibat diabetes Melitus sebanyak 1,3 juta dan yang meninggal sebelum 70 tahun sebanyak 4 persen. Kasus kematian Diabetes Melitus terjadi pada usia 45-54 tahun dan sering terjadi pada penduduk kota dari pada penduduk di pedesaan 4 dari 5 orang pengidap Diabetes Melitus (81%) tinggal di negara berpendapatan rendah dan menengah, sehingga masih ada 44% orang dewasa pengidap Diabetes Melitus belum di diagnosis (WHO, 2020).

Pada Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) di tahun 2018 telah mengumpulkan data penderita Diabetes Melitus pada penduduk umur  $\geq 15$  tahun. Kriteria Diabetes Melitus yang diambil Riskesdas 2018 mengacu pada Konsensus Perkumpulan Endokrinologi Indonesia (PERKENI) dengan menggunakan kriteria *American Diabetes Association (ADA)*. Menurut kriteria tersebut, seseorang dinyatakan mengalami Diabetes Melitus apabila kadar glukosa darah puasa mencapai  $\geq 126$  mg/dl, atau glukosa darah sewaktu  $\geq 200$  mg/dl. Hasil Riskesdas 2018 menunjukkan prevalensi Diabetes Melitus di Indonesia berdasarkan diagnosis dokter pada umur  $\geq 15$  tahun sebesar 2%. Angka ini memperlihatkan terjadinya peningkatan dibanding prevalensi Diabetes Melitus pada penduduk  $\geq 15$  tahun sebesar 1,5%. (Kemenkes, 2020).

Terdapat dua faktor resiko terjadinya diabetes melitus tipe 2 diantaranya yaitu faktor yang tidak dapat diubah dan faktor yang dapat diubah. Faktor yang tidak dapat diubah adalah jenis kelamin, umur, dan faktor keturunan. Faktor resiko terjadinya diabetes melitus akan sering terjadi pada usia  $\geq 45$  tahun. Selanjutnya, faktor resiko yang dapat diubah seperti pola makan, kebiasaan merokok, obesitas, hipertensi stress, aktivitas fisik, alkohol dan sebagainya. (Fitriani et al., 2021).

Bentuk diabetes yang cenderung genetik dikenal sebagai diabetes melitus tipe 2, sebagai akibat dari ketidakmampuan sel beta pankreas untuk menghasilkan ATP yang diperlukan untuk proses sekresi. Mutasi A ke G pada posisi nukleotida ke-3243 dari gen tRNA<sup>Leu</sup> DNA mitokondria dikaitkan dengan kerusakan. Maternally Inherited Diabetes and Deafness (MIDD), suatu kondisi ketika seorang wanita mewarisi diabetes dan tuli, dan kasus ini telah diidentifikasi sebagai penyebab mutasi. Mutasi mtDNA berperan dalam perkembangan Diabetes Melitus tipe 2 dan merupakan salah satu patogenik untuk diabetes, Mutasi A3243G ini berkaitan dengan gambaran multiklinis MIDD dan MELAS (Alan et al., 2022)

Berdasarkan uraian latar belakang di atas, maka penentuan potensi dan pewarisan pada pasien Diabetes Melitus tipe 2 untuk populasi orang diperlukan. Penelitian lebih lanjut dilaksanakan untuk mencari metode lebih sensitif dan sederhana dalam mendeteksi tingkat heteroplasmi rendah pada sampel darah yang dapat digunakan untuk deteksi dini. Oleh karena itu, peneliti tertarik ingin mendeteksi mutasi A3243G mtDNA pada pasien Diabetes Melitus tipe 2 Dengan menggunakan Metode PCR Allele's Specific Amplification (PASA) metode ini dipilih karena belum banyak digunakan oleh para peneliti lain serta untuk meningkatkan akurasi deteksi karena mutasi A3243G mtDNA merupakan mutasi heteroplasmi.

## METODE

Jenis penelitian yang digunakan adalah bersifat deskriptif dengan *pendekatan cross sectional*. Pengambilan sampel telah dilaksanakan di RSUD Labuang Baji Makassar dan pemeriksaan sampel di Laboratorium Biologi Molekuler HUM-RC (Hasanuddin University Medical Research Center). Penetapan besar sampel dalam penelitian ini adalah convenience sampling, yaitu pengambilan sampel sesuai dengan kondisi di lokasi penelitian dengan jumlah 15 subjek. Teknik pengambilan sampel dilakukan dengan teknik purposive sampling yaitu cara pengambilan subjek penelitian berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi. Alat pemeriksaan yang digunakan pada penelitian ini adalah Polymerase Chain Reaction (PCR).

## HASIL

**Tabel 1 karakteristik subjek Penelitian**

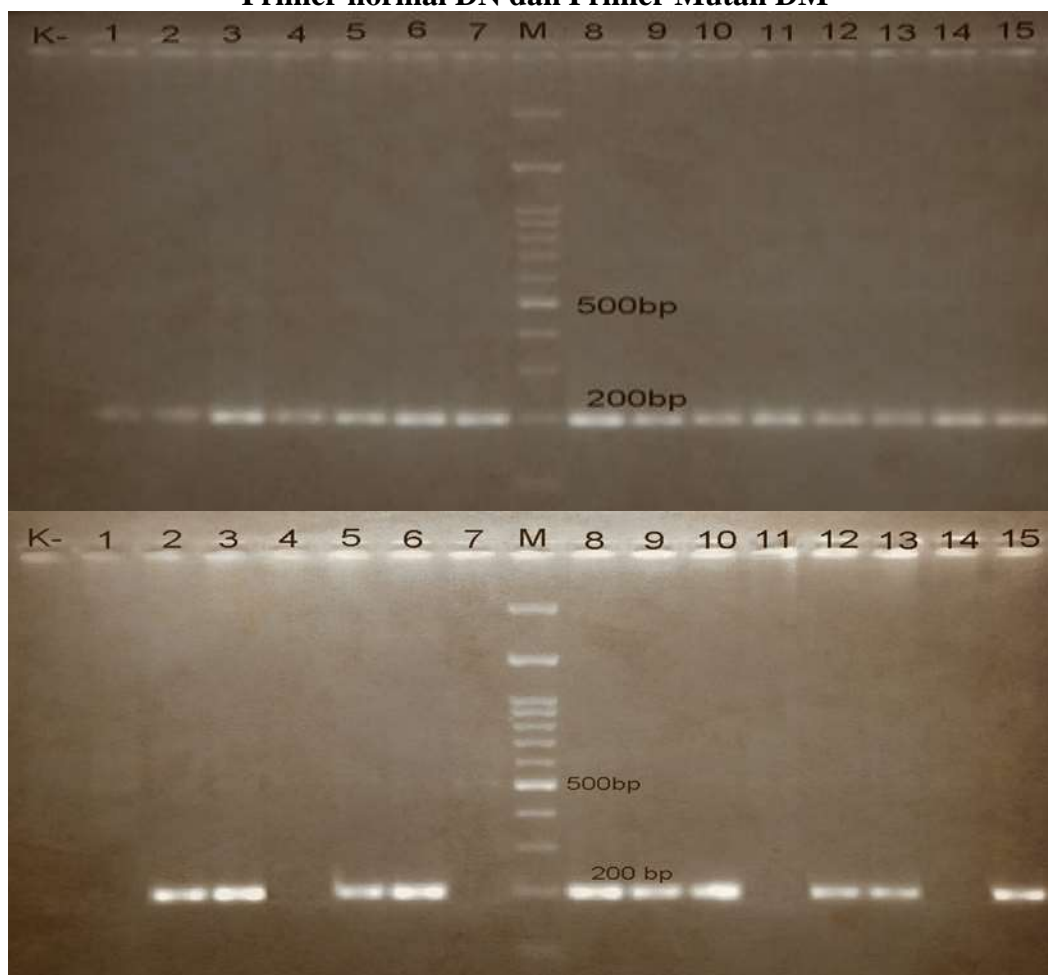
Kategori	N	Persentase (%)
<b>Usia:</b>		
30-40	6	40%
50-60	6	40%
70-80	3	20%
Total	15	100%
<b>Jenis Kelamin:</b>		
Laki-laki	7	46,7%
Perempuan	8	53,3%
Total	15	100%
<b>Kelompok Sampel:</b>		
Non Obesitas	10	66,1%
Pendengaran Berkurang	4	26,1%
Katarak	1	6%
Total	15	100%

(Sumber: Data Primer, 2023)

Berdasarkan tabel 1 menunjukkan bahwa usia 30-40 tahun sebanyak 6 responden dengan persentase (40%), usia 50-60 tahun sebanyak 6 responden dengan persentase (40%) dan usia 70-80 tahun sebanyak 3 responden dengan persentase (20%). Untuk variabel jenis kelamin menunjukkan sebanyak 15 responden, dimana responden dengan jenis kelamin laki-laki sebanyak 7 responden dengan persentase sebanyak (46,7%)

sedangkan jenis kelamin perempuan sebanyak 8 dengan persentase (53,3%). Pada karakteristik responden berdasarkan kelompok sampel menunjukkan 10 responden dengan gejala Non Obesitas sebanyak 10 dengan presentase 66,1%, Penedengaran Berkurang sebanyak 4 responden dengan presentase 26,1% dan Katarak sebanyak 6%.

**Gambar 1 Hasil Elektroforesis pada tabung 1 dan 2 dengan Primer Universal D1 Primer normal DN dan Primer Mutan DM**



(Sumber : Data Primer, 2023)

Berdasarkan gambar 1. Dapat dilihat (Gambar atas) bahwa semua subjek penelitian memiliki mtDNA Normal pada 15 sampel yang ditandai dengan ukuran pada rentang 200 bp. Kemudian terlihat primer universal (D1) & primer mutan (DM) pada gambar 1 (bawah). Subjek penelitian dengan kode (2, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 11, 12 dan 15) menunjukkan hasil mutasi heteroplasmia positif, dimana pada (gambar 1) tabung 1 dengan primer universal D1 dan primer normal DN menunjukkan pita pada rentang 200 bp, demikian juga pada tabung 2 dengan primer universal D1 dan primer mutan DM menghasilkan pita 200 bp.

**Tabel 2 Hasil Deteksi Mutasi A3243G DNA pada 15 Sampel menggunakan primer universal D1, primer normal DN, primer mutan DM.**

Kode Sampel	Fenotipe
1	Normal
2	Heteroplasmia

3	Heteroplasmi
4	Normal
5	Heteroplasmi
6	Heteroplasmi
7	Normal
8	Heteroplasmi
9	Heteroplasmi
10	Heteroplasmi
11	Normal
12	Heteroplasmi
13	Heteroplasmi
14	Normal
15	Heteroplasmi

(Sumber : Data primer, 2023)

Hasil pemeriksaan deteksi mutasi A3243G mtDNA menggunakan metode PASA dengan 3 primer universal (D1), primer normal (DN) dan primer mutan (DM) menunjukkan hasil pada kode (1, 4, 7 11, 14 ) sampel normal negatif mengalami mutasi A3243G dengan melihat tidak munculnya ukuran pita 200 bp pada tabung 2 pada primer DN dan DM, kelompok sampel ini berasal dari pasien yang mengalami non obesitas seperti yang terlihat pada tabel 1.3 sedangkan untuk kode 2, 3, 5, 6, 8, 9, 10, 12, 13, 15 menunjukkan sampel positif mengalami mutasi heteroplasmi dengan munculnya pita ukuran 200 bp pada kedua tabung dengan primer D1-DN dan DN-DM.

## PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Hasanuddin University Medical Reserch (HUM-RC) Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin pada bulan mei 2023. Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah sampel darah, Pemilihan sel darah sebagai sampel dikarenakan sel ini mempunyai jumlah organel mitokondria yang cukup banyak selain sel-sel yang lain seperti sel epitel, sel otot, dan sel akar rambut. Alasan lainnya adalah karena sampel darah relatif mudah diambil dan telah digunakan sebagai sampel pada penelitian sebelumnya untuk menganalisis mutasi A3243G mtDNA yang berhubungan dengan Diabetes Melitus.

Pemeriksaan secara molekuler dapat membantu dengan cepat dalam mendeteksi mutasi, Polymerase Chain Reaction Alleles Specific Amplification (PCR-PASA) merupakan teknik molekuler yang dipilih untuk mendeteksi mutasi A3243G mtDNA. Dimana pada penelitian (Sriwido, 2008) menyatakan bahwa apabila sampel mengandung mutasi A-G pada titik 3243, maka baik tabung yang mengandung primer D1/Dn maupun D1/Dmt akan menghasilkan produk PCR dengan pita berukuran 200 pb, ini dikarenakan mutasi yang bersifat heteroplasmi memiliki campuran templat mtDNA mutan yang lebih sedikit dibandingkan templat normal. Metode PASA pada penelitian ini menggunakan tiga primer, yaitu; primer universal D1 5'-AAC GTT GGG GCC TTT GCG TA-3', primer normal DN 5'-GGG TTT GTT AAG ATG GCA TG-3' primer mutan DM 5'- GGG TTT GTT AAG ATG GCA TG-3'. PASA dilakukan dengan teknik PCR pada dua tabung. Tabung pertama menggunakan primer universal D1 dan primer normal DN sedangkan tabung kedua menggunakan primer universal D1 dan primer mutan DM.

Pada tahap isolasi DNA, menggunakan metode Spin Column, dimana pada tahap ini akan terjadi pengikatan DNA murni pada silika gel, proses inkubasi sangat

memberikan pengaruh yang besar dimana hal ini dilakukan agar DNA yang terdapat dalam sampel aktif dan tersaring dengan baik setelah penambahan untuk mengekstraksi DNA. Proses amplifikasi dimulai dengan PCR PASA mix, Tahap ini terdapat penambahan primer spesifik menggunakan primer universal D1 5'-AAC GTT GGG GCC TTT GCG TA-3', primer normal DN 5'-GGG TTT GTT AAG ATG GCA TG-3' primer mutan DM 5'- GGG TTT GTT AAG ATG GCA TG-3', kemudian. Tahap yang terakhir ditambahkan DNA templat yang merupakan hasil dari isolasi DNA sampel. Tahap awal proses PCR adalah tahap denaturasi awal yang akan dilakukan pada suhu 94°C selama 5 menit, kemudian masuk ke program siklus PCR dengan masing-masing siklus terdiri tiga tahap yaitu tahap denaturasi pada suhu 94°C selama 1 menit, tahap penempelan primer (annealing) pada suhu 55°C selama 1 menit dan tahap perpanjangan primer (extension) pada suhu 72°C selama 1 menit. Akhir dari semua siklus dilakukan tambahan proses extension pada suhu 72°C selama 5 menit, dengan proses elektroforesis. Pada proses elektroforesis molekul DNA akan bergerak didalam pori-pori gel agarosa dengan bantuan medan listrik pada voltase dan waktu yang ditentukan.

Hasil pemeriksaan PCR menggunakan metode PASA 2 tabung, primer universal D1, Primer normal DN, primer mutan DM menunjukan dari 15 sampel yang digunakan hanya 10 sampel yang terdeteksi mengalami positif mutasi A3243G dengan kode sampel (2, 3, 5, 6, 8, 9, 10, 12, 13, 15) dan 5 sampel yang negatif mutasi mtDNA dengan kode (1, 4, 7, 11, 14). Menurut Wayan et.al. (2017). Berdasarkan studinya bahwa 25% penderita diabetes melitus tipe 2 yang mengalami MIDD (Maternally Inherited Diabetes and Deafness) dengan gejala nonobesitas, nonketoasidosis, menyerang usia dewasa, munculnya ketulian atau terdapat riwayat pada garis keturunan seibu yang terkena diabetes beserta gangguan pendengaran cenderung memiliki mutasi A3243 mtDNA. Berdasarkan hasil penelitian Sriwidodo et al., (2018) menunjukkan bahwa Metode PASA efektif untuk mendeteksi mutasi titik penyebab MIDD, sehingga para klinisi dapat membedakan DM tipe ini dengan DM tipe 2, yang nantinya pengobatan pada individu tersebut dapat lebih rasional.

Hal ini sejalan dengan penelitian (Sriwidodo et al 2018) Mutasi heteroplasmia A3243G pada pasien Diabetes Melitus tipe 2 dapat ditunjukkan dari hasil PCR- PASA yang menunjukkan adanya dua fragmen dengan ukuran 200 pb pada alel normal dan mutan. PASA terdiri dari dua reaksi yang saling komplementer (dua tabung) dan menggunakan tiga primer. Satu primer tetap dan komplementer dengan templat pada kedua reaksi, primer lainnya berbeda pada residu terminal 3'-nya dan spesifik baik pada deret DNA wild type atau pada deret yang termutasi, hanya satu dari primer ini yang digunakan per tabung. Teknik ini membutuhkan ujung nukleotida 3' dari primer PCR spesifik hanya dengan alel (Alydrus, dkk., 2023)). Jadi primer disintesis dalam dua bentuk. Bentuk normal adalah refraktori terhadap PCR dari DNA templat mutan dan bentuk mutan refraktori terhadap PCR DNA normal. Jika sampel adalah mutan homozigot atau wild type homozigot amplifikasi hanya akan terjadi pada salah satu tabung, jika sampel adalah heterozigot maka amplifikasi akan terlihat pada kedua tabung.

Berdasarkan data tabel 1 karakteristik umur dan jenis kelamin penderita diabetes melitus tipe II, pada sampel penelitian, sampel dengan kisaran usia 30-40 tahun sebanyak 6 responden dengan presentase (40%), usia 50-60 tahun sebanyak 6 responden dengan presentase (40%) dan usia 70-80 tahun sebanyak 3 responden dengan presentase (20%). Susilawati et al., (2021) melaporkan bahwa 95% kejadian diabetes melitus tipe 2 terjadi di usia  $\leq 40$  keatas. Hal ini dikarenakan peningkatan lemak dalam tubuh yang terakumulasi di abdomen, sehingga memicu obesitas sentral dan resistensi insulin yang merupakan proses awal terjadinya diabetes melitus tipe 2..

Berdasarkan data distribusi jenis kelamin pada penderita diabetes melitus tipe II, pada sampel penelitian sampel yang berjenis kelamin lebih banyak berdominan pada wanita sebanyak 8 orang dengan presentase 53,3% sedangkan yang berjenis kelamin laki-laki sebanyak 7 orang dengan presentase 46,7 % . Nova et al., (2018) dalam penelitiannya menyatakan bahwa perempuan memiliki resiko lebih besar untuk menderita diabetes melitus tipe 2, dari pada laki-laki karena secara fisik wanita memiliki peluang peningkatan indeks masa tubuh yang lebih besar sindroma siklus bulanan yang membuat distribusi lemak tubuh menjadi terakumulasi akibat proses hormonal tersebut sehingga wanita beresiko menderita diabetes melitus.

Berdasarkan Tabel II.2 didapatkan hasil tidak munculnya pita ukuran 200 bp pada tabung 2 dengan primer universal D1 dan primer mutan DM atau tidak terjadi mutasi, untuk kode sampel 1, 4, 7, 11, 14, Kelompok sampel ini berasal dari penderita Diabetes Melitus tipe 2 non-obesitas. Menurut (Olaogun et al 2020) Kelompok diabetes non-obesitas menunjukkan kegagalan sel beta yang tidak parah dibandingkan dengan individu obesitas. Pasien Diabetes non-obesitas memiliki peningkatan risiko penyakit kardiovaskular yang serupa dengan pasien obesitas. Selain itu, fenotipe ini lebih banyak ditemukan polimorfisme gen TCF7L2 yang mempengaruhi kerja insulin meningkatkan risiko DMT2 pada subjek non-obesitas dibanding mutasi A3243G.

Sedangkan untuk kode sampel 2, 3, 5, 6, 8, 9, 10, 12, 13, 15 positif mengalami mutasi A3243G mtDNA yang bersifat heteroplasm dengan munculnya ukuran pita 200 bp. Kelompok sampel ini berasal dari penderita Diabetes Melitus tipe 2 non obesitas, katarak dan pendengaran berkurang. Hal ini sejalan dengan penelitian (Wayan, 2017) terdapat mutasi heteroplasm A3243G mtDNA pada 15% penderita Diabetes Melitus tipe 2 yang mengalami penurunan fungsi jaringan neuromuscular dengan munculnya pita ukuran 200 pb pada sampel yang di amplifikasi dengan pasangan primer D1/DN untuk mtDNA normal dan pasangan primer D1/DMt untuk mtDNA yang mengalami mutasi. Penderita Diabetes Melitus tipe 2 yang mengalami Penurunan fungsi mitokondria salah satunya jaringan neuromuscular (ketulian, miopati, demensia, ataksia, seizure, dan lain-lain), sel  $\beta$  pankreas (diabetes melitus), jantung gastrointestinal (dysphagia), lensa mata (katarak), dan jaringan lainnya Munculnya fenotipe penyakit diakibatkan penurunan fungsi mitokondria sehingga banyaknya mutasi yang mengganggu fungsi kompleks protein respirasi dan merusak sistem syaraf.

Hal yang sama ditemukan pada penelitian (Sonia et al.,2021) bahwa komplikasi penderita diabetes melitus akan berdampak pada pendengarannya dikarenakan telinga memiliki struktur yang cukup tipis, diabetes yang tidak terkontrol akan memicu oleh peningkatan radikal bebas dan dapat merusak pembuluh darah di seluruh tubuh termasuk yang ada dalam telinga, apabila telinga kekurangan suplai darah maka penurunan kualitas pendengaran berkurang dan dapat mengganggu keseimbangan tubuh. Radikal bebas dapat menyebabkan mutasi A3243G pada DNA mitokondria dan akhirnya terjadi disfungsi mitokondria sehingga dapat mempercepat kematian sel dan timbulnya penyakit mitokondria (Maksum, 2018).

Pada penelitian ini terdapat beberapa kelemahan yang membuat hasil yang didapatkan kurang maksimal. Beberapa kelemahan tersebut ialah sampel yang digunakan sedikit dan tidak begitu spesifik dalam gejala mutasinya baik pada sampel sehingga menarik kesimpulan dari hasil yang didapatkan belum bisa dilakukan secara spesifik dan akurat. Adapun kelemahan lain yaitu visualisasi DNA yang kurang jelas terlihat pada pembacaan elektroforesis sehingga cukup sulit untuk menginterpretasikan beberapa sampel penelitian hal ini bisa terjadi karena konsentrasi DNA hasil amplifikasi rendah dikarenakan faktor ekstraksi yang kurang baik, pemipetan tidak sesuai volume, ataupun suhu yang kurang optimal dapat mempengaruhi konsentrasi DNA hasil amplifikasi.

## KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa terdapat mutasi heteroplasmia A3243G mtDNA yang teridentifikasi dengan metode PCR Allele's Specific Amplification (PASA) pada pasien diabetes melitus tipe 2, hal ini terlihat dengan munculnya pita ukuran 200 pb pada 10 sampel dari 15 sampel dengan kode sampel (2, 3, 5, 6, 8, 9, 10, 12, 13, 15) yang diamplifikasi dengan pasangan primer D1/DN untuk mtDNA normal dan pasangan primer D1/DMt. Disarankan untuk melakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan sampel yang lebih besar dan menggunakan metode yang berbeda agar mendapatkan hasil penelitian yang berbeda.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alan, T. W., Geoffrey, A. T., Mark, E. D., Sarcpreet, S. S., Teresa, M. W., Patrick, F. C., Douglass, M. T. & Mark, (2002). *Understanding the Role of Mitochondrial Gene Errors in Maternally Inherited Diabetes by Complete Mitochondrial Genome Sequencing. Diabetes* 51: 2317-2320. Brief Genetics Report.
- Fitriyanti, M. E., Febriawati, H., & Yanti, L. (2021). *Pengalaman Penderita Diabetes Melitus Dalam Pencegahan Ulkus Diabetik*. Jurnal Keperawatan Muhammadiyah Bengkulu, 7(2), 598
- Maksum, I.P., Sriwidodo, O. Suprijana, G. Natadisastra, S. Nuswantara & A.S. Noer. (2010). *Identifikasi mutasi heteroplasmia A3243G DNA mitokondria dan studi pewarisan maternal pada pasien diabetes melitus tipe 2*. Bionatura. 12 (1).
- Nova Rita. (2018). *Hubungan Jenis Kelamin, Olahraga Dan Obesitas Dengan Kejadian Diabetes Melitus Tipe 2 Pada Lansia*. Yogyakarta: Jurnal Ilmu Kesehatan. 2 (1).2597-8594
- Nur Laela Alydrus, Rugayyah Alydrus, & Welna Souhuwat. (2023). *Deteksi Entamoeba coli Pada Anak Balita Stunting Menggunakan Metode Polymerase Chain Reaction (PCR)*. INHEALTH : INDONESIAN HEALTH JOURNAL, 2(1), 17–25. <https://doi.org/10.56314/inhealth.v2i1>
- Olaogun I, Farag M, Hamid P.(2020). *The Pathophysiology of Type 2 Diabetes Mellitus in Non-obese Individuals: An Overview of the Current Understanding*. Cureus.10;12(4):e7614.doi:10.7759/cureus.7614. PMID: 32399348; PMCID: PMC7213678.
- Roden, M.; Shulman, G.I.(2019). *The integrative biology of type 2 diabetes*. Nature, 576, 51–60. [CrossRef] [PubMed]
- Susilawati, & Rista Rahmawati. (2021). *Hubungan Usia, Jenis Kelamin Dan Hipertensi Dengan Kejadian Diabetes Melitus Tipe 2 di Puskesmas Tugu Kecamatan Cimanggis Kota Depok*. Jurnal ARKEMAS Depo, 6(1)
- Sriwidodo, O Suprijana,& Toto Subroto. (2008). *Studi Mutasi titik A3243G DNA Mitokondria Penyebab Maternally Inherited Diabetes And Deafness*. Jurnal Ilmu Kefarmasian Sumedang, 5(3), 121-129