

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Landasan Teori

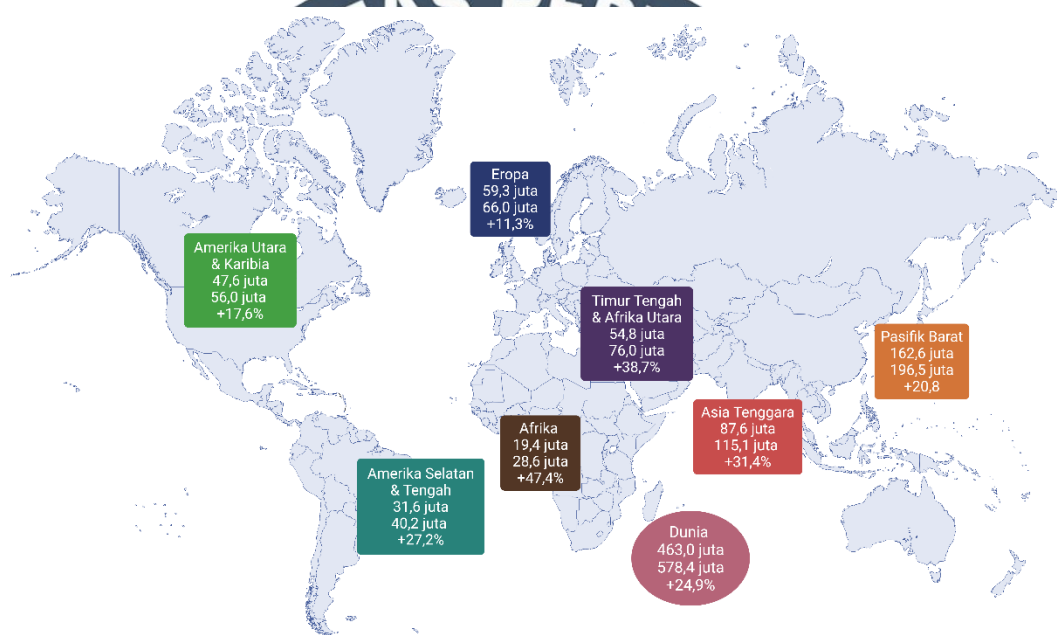
2.1.1 Diabetes Melitus

2.1.1.1 Definisi Diabetes Melitus

Diabetes melitus (DM) menurut *American Diabetes Association* mencakup berbagai gangguan metabolisme yang ditandai dengan kadar gula darah tinggi atau kondisi hiperglikemia akibat masalah produksi insulin, fungsi insulin, atau kombinasi keduanya (ADA, 2013). Sel beta pankreas memproduksi insulin, hormon yang bertanggung jawab untuk menjaga keseimbangan glukosa darah dalam tubuh. Jika insulin tidak ada, glukosa akan tetap berada dalam aliran darah karena tidak dapat diserap ke dalam sel. Diabetes melitus mempunyai konsentrasi gula darah yang melebihi batas normal yaitu ≥ 200 mg/dL untuk konsentrasi gula darah sewaktu dan ≥ 126 mg/dL untuk konsentrasi gula darah puasa (ADA, 2013). Predikat sebagai *silent killer* ditujukan untuk penyakit diabetes melitus karena penderita akan menjalani penyakit secara tidak sadar dan secara masih tumbuh menjadi komplikasi ketika sudah terasa efek dari penyakitnya (Nugraha & Siregar, 2022). Hiperglikemia yang terus-menerus pada diabetes dapat menyebabkan kerusakan organ yang berbeda dalam jangka panjang, terutama yang berkaitan dengan mata (retinopati), saraf (neuropati), pembuluh darah, jantung (kardiovaskular), dan ginjal (nefropati) (Kaur et al., 2023).

Menurut *atlas International Diabetes Federation* (IDF) edisi ke-10, Indonesia menempati peringkat kelima di dunia pada tahun 2021 untuk jumlah kasus diabetes melitus tertinggi, yaitu mencapai 19,5 juta orang. Angka ini diperkirakan akan meningkat menjadi 28,6 juta pada tahun 2045 (IDF, 2021). Perkumpulan Endokrinologi Indonesia melaporkan peningkatan signifikan pasien DMT2, dengan jumlah penderita DMT2 lebih banyak daripada DMT1 (PERKENI, 2021). *World Health Organization*

(WHO) juga memprediksi pasien DMT2 di Indonesia meningkat dari 8,4 juta pada 2000 menjadi 21,3 juta pada 2030. Menurut hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2018, DKI Jakarta tercatat sebagai provinsi dengan prevalensi diabetes melitus tertinggi di Indonesia, yakni sebesar 3,4%. Angka ini mengalami peningkatan dibandingkan dengan tahun 2013 yang hanya sebesar 2,5%. Dengan total penduduk sekitar 10,5 juta jiwa, diperkirakan ada lebih dari 250.000 orang yang mengidap diabetes di wilayah ini (Yulia & Cahyati, 2022).



Gambar 2.1 Prevalensi Kasus Diabetes Melitus di Dunia (Usia 20-79 Tahun) Wilayah IDF
Sumber: Diolah dari (Saeed et al., 2019)

2.1.1.2 Klasifikasi Diabetes Melitus

Menurut *Centers for Disease Control and Prevention* diabetes dapat di klasifikasikan menjadi:

a. Diabetes Melitus Tipe 1 (DMT1)

Diabetes Melitus Tipe 1 (DMT1) adalah jenis diabetes yang terjadi akibat reaksi autoimun, yaitu ketika sistem imun secara keliru menargetkan dan menyerang jaringan tubuhnya sendiri. Reaksi tersebut mengakibatkan pankreas berhenti memproduksi insulin.

Penderita DMT1 dapat bertahan hidup dengan mengonsumsi insulin setiap hari. Gejala yang ditimbulkan penderita akan berkembang dengan cepat, namun DMT1 lebih jarang terjadi dibandingkan DMT2. Faktor genetik dapat menjadi penyebab munculnya diabetes tersebut, tetapi aktifnya gen terkait dapat tergantung pada lingkungan dan kebiasaan gaya hidup.

b. Diabetes Melitus Tipe 2 (DMT2)

Diabetes Melitus Tipe 2 (DMT2) adalah gangguan metabolisme yang terjadi akibat gangguan fungsi insulin, sehingga menyebabkan kadar glukosa darah tidak normal. Kondisi tersebut berkembang selama bertahun-tahun dan terjadi kebanyakan pada orang dewasa. Penderita biasanya tidak mengalami gejala apapun, sehingga diperlukan pengecekan kadar gula darah secara rutin.

c. Diabetes Melitus Gestasional

Diabetes Melitus Gestasional merupakan penyakit diabetes yang berkembang pada wanita hamil yang sebelumnya belum pernah mengalami diabetes. Diabetes gestasional biasanya hilang setelah wanita melahirkan bayinya, namun bayi tersebut cenderung berisiko tinggi memiliki masalah kesehatan seperti obesitas atau menderita diabetes melitus tipe 2 ketika dewasa.

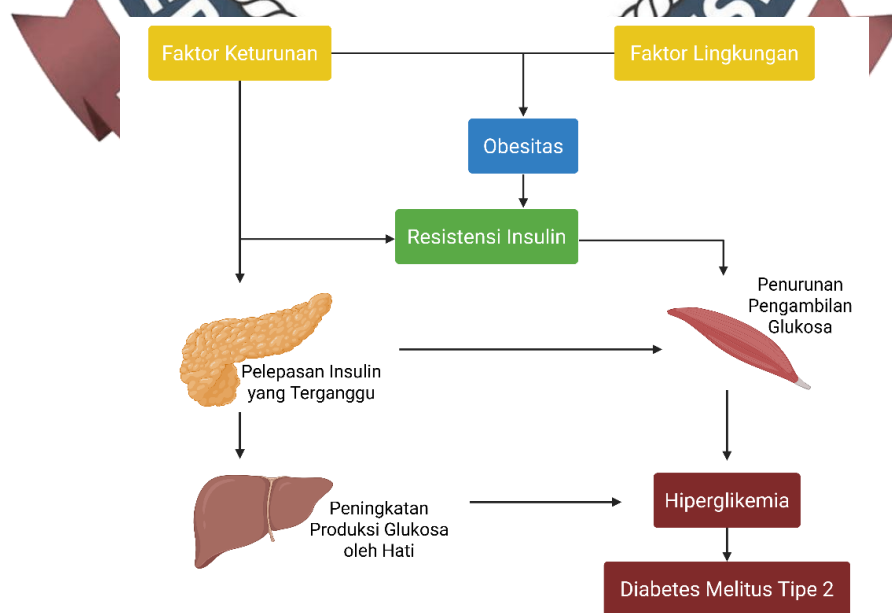
d. Diabetes Melitus Tipe Lain

Diabetes Melitus tipe lain merupakan penyakit diabetes yang dipicu oleh suatu kondisi seperti sindrom diabetes monogenik, penyakit pankreas eksokrin, dan hasil dari paparan obat-obatan atau zat kimia tertentu, termasuk glukokortikoid yang umum digunakan dalam penanganan HIV/AIDS atau perawatan pasca transplantasi organ (PERKENI, 2021).

2.1.1.3 Patofisiologi Diabetes Melitus Tipe 2

Patofisiologi diabetes melitus tipe 2 disebabkan oleh beberapa faktor antara lain faktor genetik, faktor lingkungan, dan gangguan metabolik (Sari et al., 2017). Salah satu faktor utama yang memicu perkembangan

DMT2 adalah obesitas, terutama obesitas sentral, yang berperan dalam menurunkan sensitivitas jaringan terhadap insulin atau disebut resistensi insulin. Kemampuan sel dalam menyerap glukosa berkurang pada penderita yang mengalami resistensi insulin pada otot, hati, maupun jaringan lemak. Kondisi ini menyebabkan gangguan dalam penyerapan glukosa oleh otot rangka, sehingga kadar glukosa darah tetap tinggi meskipun kadar insulin cukup (Wondmkun, 2020). Selain itu, resistensi insulin di hati menyebabkan ketidakefektifan penghambatan glukoneogenesis oleh insulin (Nigussie et al., 2022). Maka, tubuh akan merespon dengan mengeluarkan lebih banyak insulin agar kadar gula dalam darah tetap normal. Kondisi tersebut mengakibatkan penderita mengalami gangguan toleransi glukosa atau yang sering disebut sebagai kondisi pradiabetes. Akibatnya, mereka belum dapat didiagnosis diabetes. Selanjutnya, sel beta pankreas tidak dapat mengimbangi resistensi insulin, yang menyebabkan kadar glukosa dalam darah menjadi meningkat dan mengalami gangguan fungsi sel beta pankreas. Pada akhirnya, ketidakseimbangan sel beta pankreas yang terus menerus menyebabkan sekresi insulin berhenti (Sari et al., 2017).



Gambar 2.2 Patofisiologi Diabetes Melitus Tipe 2

Sumber: Diolah dari Nigussie et al., 2022

2.1.1.4 Farmakoterapi Diabetes Melitus Tipe 2

Saat ini lini pertama terapi farmakologis pada diabetes melitus tipe 2 diketahui paling efektif menggunakan Antidiabetik Oral (OAD) tunggal berupa metformin (Jannah et al., 2021). Metformin sebagai lini pertama penyakit ini, dapat efektif dalam menekan glukoneogenesis yang bekerja pada gangguan hati. Sedangkan jika diketahui terjadi ketidakseimbangan fungsi sel beta pankreas yang menyebabkan produksi insulin menurun dapat menggunakan sulfonilurea, meglitinide, dan DPP-4 inhibitor (PERKENI, 2021).

Meskipun terdapat berbagai jenis antidiabetik oral, penggunaan monoterapi sering kali tidak cukup untuk mengelola kadar gula darah secara optimal dan mengatasi berbagai komplikasi penyerta. Oleh karena itu, manajemen terapi diabetes melitus tipe 2 biasanya melibatkan kombinasi obat-obatan yang bekerja melalui mekanisme berbeda, guna mencapai kontrol glikemik yang lebih baik dan memperbaiki profil metabolik pasien secara menyeluruh (Artasensi et al., 2020).

Tabel 2.1 Profil Obat Antidiabetika Oral

Golongan Obat	Cara Kerja	Efek Samping	Penurunan HbA1C
Metformin	Menurunkan produksi glukosa hati dan meningkatkan sensitivitas pada insulin	Dispepsia, diare, asidosis laktat	1,0-1,3%
Thiazolidinedione	Meningkatkan sensitifitas pada insulin	Edema	0,5-1,4%
Sulfonilurea	Meningkatkan sekresi insulin	BB naik, hipoglikemia	0,4-1,2%

Golongan Obat	Cara Kerja	Efek Samping	Penurunan HbA1C
Glinid	Meningkatkan sekresi insulin	BB naik, hipoglikemia	0,5-1,0%
Penghambat Alfa-Glukosidase	Menghambat absorpsi glukosa	Flatulen, tinja lembek	0,5-0,8%
Penghambat DPP-4	Meningkatkan sekresi insulin dan menghambat sekresi glukagon	Sebah, muntah	0,5-0,8%
Penghambat SGLT-2	Menghambat reabsorpsi glukosa di tubulus distal	Infeksi saluran kemih dan genital	0,5-0,9%

Sumber: Diolah dari PERKENI, 2021

Apabila pengobatan diabetes melitus tipe 2 dengan obat oral sudah dilakukan dengan dosis maksimal namun nilai kadar HbA1c sebagai penanda gula darah rata-rata dalam tiga bulan terakhir masih di atas target yakni $HbA1c \geq 8$, maka terapi insulin menjadi pilihan berikutnya (Anggriani et al., 2020). Selain itu, pasien yang memiliki kondisi medis yang menghalangi penggunaan obat oral atau mengalami reaksi alergi terhadap obat tersebut juga dapat diberikan insulin (Anggriani et al., 2020). Insulin yang diberikan dari luar tubuh (eksogen) ini terbagi menjadi lima jenis berdasarkan durasi kerjanya, seperti insulin yang bekerja dengan cepat, insulin yang bekerja dengan pendek, insulin yang bekerja dengan menengah, insulin yang bekerja dengan panjang, ultra panjang, dan sangat panjang (Hardianto, 2021).

Tabel 2.2 Profil Insulin Eksogen

Jenis Insulin	Onsent	Puncak Efek	Lama Kerja
Insulin Analog Kerja Cepat (<i>Rapid – Acting</i>)			
Insulin lispro (Humalog®)	5 – 15 menit	1 – 2 jam	4 – 6 jam
Insulin aspart (Novorapid®)			
Insulin glulisine (Apidra®)			
Insulin <i>Human</i> Kerja Pendek = Insulin Regular (<i>Short-Acting</i>)			
Humulin R®	30 – 60 menit	2 – 4 jam	6 – 8 jam
Actrapid®			
Insulin Human Rapid®			
Insulin <i>Human</i> Kerja Menengah = NPH (<i>Intermediate-Acting</i>)			
Humulin N®	1,5 – 4 jam	4 – 10 jam	8 – 12 jam
Insulatard®			
Insumal Basal®			
Insulin Analog Kerja Panjang (<i>Long-Acting</i>)			
Insulin detemir (Levemir®)	1 – 3 jam	Hampir tanpa puncak	12 – 24 jam
Insulin glargine (Lantus®, Basaglar®)			
Insulin Analog <i>Ultralong</i>			
Degludec (Tresiba®)	30 – 60 menit	Tanpa puncak	Sampai 48 jam
Insulin <i>Human</i> Campuran (<i>Human Premixed</i>)			
Humulin 30/70®	30 – 60 menit	3 – 12 jam	10 – 16 jam
Mixtard 30/70®			
Insulin Analog Campuran			
Humalog Mix25®	12 – 30 menit	1 – 4 jam	16 – 18 jam

Novomix 30®			15 – 18 jam
Humalog Mix50®			

Sumber: Diolah dari PERKENI, 2021

2.1.1.5 Outcome Klinis Diabetes Melitus Tipe 2

Menurut Perkumpulan Endokrinologi Indonesia (PERKENI, 2021), gambaran keberhasilan klinis berdasarkan kadar tes laboratorium darah pada pasien diabetes sebagai berikut.

Tabel 2.3 Keberhasilan Klinis Kadar Gula Darah

Status	Diabetes	Pre-Diabetes	Normal
HbA1c (%)	$\geq 6,5$	5,7 – 6,4	$< 5,7$
Gula darah puasa (mg/dL)	≥ 126	100 – 125	< 100
Gula plasma 2 jam setelah TTGO (mg/dL)	≥ 200	140 - 199	< 140
*TTGO = Tes Toleransi Glukosa Oral			

Sumber: Diolah dari PERKENI, 2021

2.1.2 Farmakogenetik

Suatu individu memiliki genom atau umumnya disebut DNA yang merupakan keseluruhan informasi genetik yang penting pada manusia (Khan et al., 2025). Genom adalah rangkaian lengkap sekuens DNA suatu organisme, Ini mencakup semua gen dan sekuens *non-coding* suatu organisme yang memiliki peran penting dalam pengaturan ekspresi gen dan fungsi sel (Khan et al., 2025). Genom manusia terdiri dari sekitar 3 miliar pasangan basa, namun hanya sekitar 2-5% dari DNA tersebut yang merupakan bagian pengkode (*coding*), yaitu segmen yang mengandung instruksi untuk sintesis protein (Poliseno et al., 2024). Bagian ini dikenal sebagai ekson dalam gen. Sementara itu, sekitar 75-90% sisanya adalah DNA non-pengkode (*non-coding*), yang sebelumnya dianggap sebagai

"junk DNA" karena tidak menghasilkan protein (Poliseno et al., 2024). Melalui analisis genom, peneliti dapat mempelajari variasi genetik antar individu yang berpotensi mempengaruhi perkembangan penyakit dan respons terhadap terapi tertentu.

Genom manusia memiliki tingkat heterogenitas yang sangat tinggi, artinya terdapat banyak perbedaan genetik di antara individu dalam populasi. Heterogenitas ini muncul karena adanya variasi genetik yang terus berkembang akibat mutasi dan seleksi alam yang terjadi dari satu generasi ke generasi berikutnya (Bergström et al., 2020). Selain itu, heterogenitas juga terlihat dari variasi alel dan polimorfisme pada gen-gen yang terlibat dalam metabolisme obat, yang dapat menyebabkan perbedaan respons individu terhadap terapi farmakologi (Bergström et al., 2020). Bentuk heterogenitas genom ini dapat berupa *single nucleotide polymorphisms* (SNPs), *insertion or deletion* (INDEL), dan *copy number variation* (CNV) (Khan et al., 2025).

Salah satu bentuk variasi genetik disebut polimorfisme genetik, yaitu variasi dalam urutan DNA yang dapat mempengaruhi fenotipe individu seperti kerentanan terhadap penyakit serta respons terhadap obat (Sukhumsirichart, 2018). Polimorfisme terjadi ketika dua atau lebih alel hadir pada satu lokus dalam populasi dengan frekuensi yang cukup tinggi ($\geq 1\%$) (Sukhumsirichart, 2018). Alel sendiri adalah bentuk varian dari gen yang terletak pada posisi tertentu di kromosom (Sukhumsirichart, 2018). Jenis polimorfisme yang paling umum terjadi adalah *single nucleotide polymorphism* (SNP) yang merupakan perubahan basa tunggal dalam urutan DNA dan paling banyak ditemukan dalam genom manusia (Sukhumsirichart, 2018). SNP telah digunakan sebagai *marker* molekuler dalam berbagai penelitian, karena dapat mempengaruhi ekspresi gen dan fungsi protein, serta berkontribusi pada perbedaan respon terhadap obat antar individu (Sukhumsirichart, 2018). Sementara itu, mutasi biasanya dikaitkan dengan efek merugikan karena menyebabkan kerusakan DNA yang tidak diperbaiki atau kesalahan dalam replikasi (Karki et al., 2015).

Dalam konteks klinis, pemahaman mengenai variasi genetik ini menjadi dasar dari farmakogenetika, yaitu cabang ilmu yang mempelajari bagaimana variasi genetik antar individu mempengaruhi respons terhadap obat, baik dari segi efektivitas maupun efek samping yang ditimbulkan (Russell et al., 2024). Beberapa variasi genetik diketahui berkaitan dengan penyakit tertentu, maupun dengan perbedaan respons individu terhadap jenis pengobatan yang sama (Khan et al., 2025). Perbedaan ini mempengaruhi cara tubuh memetabolisme obat, termasuk aktivitas enzim-enzim dan reseptor yang terlibat dalam proses terapi (Russell et al., 2024). Dengan memahami variasi genetik ini, farmakogenetika dapat membantu dalam menyesuaikan pemilihan obat dan dosis secara lebih tepat, sehingga meningkatkan efektivitas pengobatan serta meminimalkan risiko efek samping (Zastrozhin et al., 2020).

2.1.3 Single Nucleotide Polymorphism (SNP)

Single Nucleotide Polymorphism (SNP) merupakan variasi genetik yang terjadi karena terdapat perbedaan nukleotida tunggal dalam suatu urutan DNA pada individu (Phan et al., 2025). SNP dapat dikatakan bentuk polimorfisme yang paling umum dari variasi genetik di antara populasi manusia, di mana satu nukleotida dalam DNA dapat bervariasi dari satu individu ke individu lainnya (Phan et al., 2025). Variasi ini dapat terjadi di berbagai lokasi dalam genom, termasuk di dalam daerah pengkode, di daerah pengatur gen, atau di daerah non-pengkode (Wu et al., 2021). Frekuensi SNP dalam populasi dapat bervariasi, dengan beberapa SNP ditemukan pada lebih dari 1% individu, sementara yang lain mungkin lebih jarang (Matsuda, 2017).

Keberadaan SNP dapat memudahkan dalam mempelajari hubungan genetik individu, penyakit, dan respon individu terhadap obat-obatan. Maka SNP umumnya digunakan sebagai penanda genetik (Matsuda, 2017). Dalam konteks klinis, SNP dapat mempengaruhi kerentanan terhadap penyakit tertentu seperti kanker, diabetes, dan penyakit metabolik lainnya (Matsuda, 2017). Contoh SNP yang relevan

adalah polimorfisme pada gen-gen seperti *PTP1B*, *PPAR γ* , dan *HNF4A*. SNP juga penting dalam farmakogenomik, yang memungkinkan pengembangan *personalized medicine* dengan menyesuaikan obat dan dosis berdasarkan variasi genetik individu (Matsuda, 2017). Metode deteksi SNP seperti *real-time* PCR dan teknik sekuensing telah berkembang pesat untuk meningkatkan sensitivitas dan spesifisitas identifikasi SNP yang berpotensi dalam diagnosis dini dan pengobatan yang didasari oleh genetika (Wu et al., 2021).

2.1.4 Polimorfisme *PTP1B*

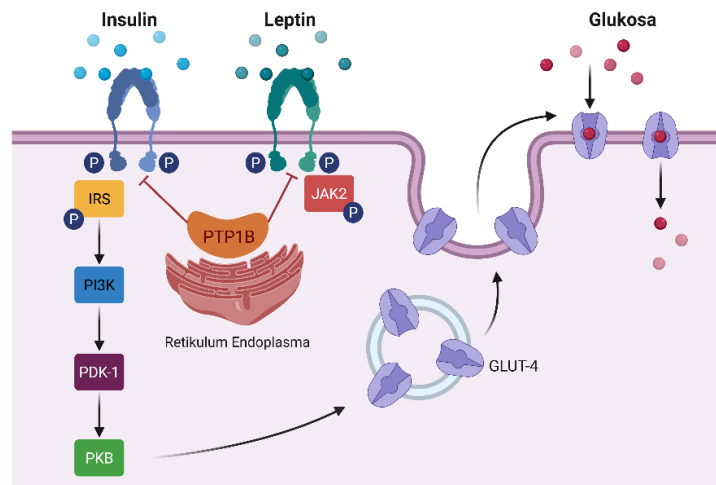
Keseimbangan fosforilasi protein dalam tubuh dikendalikan oleh dua jenis enzim utama, yaitu protein tirosin kinase (PTK) yang berfungsi menambahkan gugus fosfat, dan protein tirosin fosfatase (PTP) yang berperan menghilangkan gugus fosfat dari residu tirosin (Yamakage et al., 2021). PTP telah menjadi fokus penelitian penting dalam bidang ilmu biomedis selama dua dekade terakhir. Berbagai jenis PTP diketahui terlibat dalam patogenesis berbagai penyakit manusia, termasuk kanker, diabetes, penyakit kardiovaskular, dan autoimun (Sun et al., 2024). Temuan-temuan ini semakin memperkuat keyakinan bahwa PTP dapat menjadi target potensial dalam penemuan dan pengembangan obat di masa depan. Salah satu PTP yang banyak diteliti adalah *Protein Tyrosine Phosphatase 1B* (*PTP1B*), yang dikodekan oleh gen *Protein Tyrosine Phosphatase Non-receptor Type 1* (*PTPN1*) dan berlokasi di kromosom 20q13.13 (Sun et al., 2024). Gen tersebut merupakan jenis PTP *non-reseptor* yang terekspresi secara luas di berbagai jaringan tubuh dan terdiri dari 435 asam amino (Coronell-Tovar et al., 2024).

PTP1B memainkan peran penting dalam regulasi metabolisme glukosa dan energi dalam tubuh. *PTP1B* merupakan suatu enzim yang berfungsi sebagai regulator negatif untuk sinyal insulin dan leptin (Coronell-Tovar et al., 2024). *PTP1B* bekerja dengan cara mendefosforilasi residu phosphotyrosine dari Reseptor Insulin (IR) atau *Insulin Receptor Substrate-*

1 (IRS-1), sehingga mengakibatkan penurunan sinyal insulin serta penurunan sensitivitas insulin (Coronell-Tovar et al., 2024).

Ketika insulin berikatan dengan reseptor insulin (IR), maka terjadi aktivasi insulin yang menyebabkan autofosforilasi residu tirosin (Rocha et al., 2021). Fosforilasi tersebut membuat *Insulin Receptor Substrate-1* (IRS-1) mengaktifkan jalur *Phosphoinositide 3-kinase* (PI3K), *3-Phosphoinositide-Dependent Protein Kinase-1* (PDK1), dan *Protein Kinase B* (PKB) yang memicu translokasi vesikel GLUT4 ke membrane sel (Rocha et al., 2021). Vesikel GLUT4 yang ditranslokasikan dapat memungkinkan glukosa masuk ke dalam sel untuk digunakan sebagai energi (Rocha et al., 2021). *PTP1B* berperan dalam mendefosforilasi residu phosphotyrosine dari Reseptor Insulin (IR) dan *Insulin Receptor Substrate-1* (IRS) tersebut. GLUT4 yang terganggu akan mengurangi translokasi ke membran, menyebabkan kadar gula darah yang tinggi (Rocha et al., 2021).

Selain itu, *PTP1B* juga menghambat sinyal leptin melalui defosforilasi *Janus Kinase 2* (JAK2) dan *Signal Transducer and Activation of Transcription 3* (STAT 3) (Coronell-Tovar et al., 2024). Leptin yang berikatan dengan reseptornya di hipotalamus akan mengaktifkan JAK2 melalui fosforilasi. Lalu, JAK2 akan memicu aktivasi *downstream* molekul STAT3 yang mengatur metabolisme energi dan rasa kenyang. Namun adanya *PTP1B* akan mendefosforilasi JAK2 yang menghambat aktivasi jalur leptin dan mengakibatkan resistensi leptin dan obesitas karena mengganggu sinyal rasa kenyang (Coronell-Tovar et al., 2024).



Gambar 2.3 Jalur Pensinyalan yang Dihambat oleh *PTP1B*

Sumber: Diolah dari Rocha et al., 2021.

Individu yang memiliki ekspresi gen *PTP1B* yang rendah cenderung lebih sensitif terhadap insulin, tidak mudah mengalami obesitas akibat pola makan tinggi lemak, dan kadar gula darahnya lebih terkontrol (Yamakage et al., 2021). Penghambatan *PTP1B* secara *in vitro* terbukti dapat meningkatkan penyimpanan energi adiposit dan sensitivitas insulin, serta memberikan pengurangan pada berat badan dan parameter glikemik pada individu *overweight* yang memiliki diabetes tipe 2 (Yamakage et al., 2021). Aktivitas *PTP1B* yang berlebihan dapat memicu resistensi insulin, yang pada akhirnya berkontribusi terhadap perkembangan diabetes tipe 2 dan obesitas, sehingga menunjukkan bahwa gen *PTP1B* memiliki peran penting dalam jalur insulin dan leptin (Yamakage et al., 2021).

2.1.5 Metode Gel Elektroforesis

Gel elektroforesis merupakan suatu metode yang digunakan dalam memisahkan, menganalisis, dan mengidentifikasi fragmen DNA (Syaifudin, 2021). Hasil ekstraksi DNA diidentifikasi menggunakan elektroforesis gel untuk melihat kualitas isolat DNA yang dihasilkan (Fahlevi et al., 2017). Kualitas isolat DNA dapat ditentukan berdasarkan pita DNA yang terbentuk.

Standar bahan umum yang digunakan dalam melakukan elektroforesis DNA adalah gel agarose (Syaifudin, 2021). Dalam prosesnya, fragmen DNA dipisahkan berdasarkan ukuran (Green & Sambrook, 2019).

Molekul yang lebih kecil melewati pori-pori dengan kecepatan lebih cepat dibandingkan dengan molekul yang lebih besar. (Green & Sambrook, 2019). Gel elektroforesis menggunakan pewarna fluoresen seperti *ethidium bromide* untuk divisualisasikan di bawah cahaya *ultraviolet* (Galindo-Murillo & Cheatham, 2021). Senyawa ini bekerja dengan cara menyisip di antara pasangan basa DNA, yang memungkinkan DNA dapat terlihat di bawah sinar UV (Galindo-Murillo & Cheatham, 2021). Ketika *ethidium bromide* berikatan dengan DNA, senyawa ini akan menghasilkan fluoresensi yang dapat diamati (Galindo-Murillo & Cheatham, 2021). Sehingga dapat terlihat hasil pemisahan DNA berupa pita-pita yang jelas (Syaifudin, 2021). Setiap pita mewakili fragmen DNA dengan ukuran yang berbeda, yang dapat diidentifikasi berdasarkan jarak yang telah ditempuhnya dalam gel (Syaifudin, 2021). Hasil visualisasi yang baik yaitu ketika pita yang dihasilkan membentuk pita tunggal, tidak memanjang dan tidak membentuk *smear* (Setiati et al., 2020).

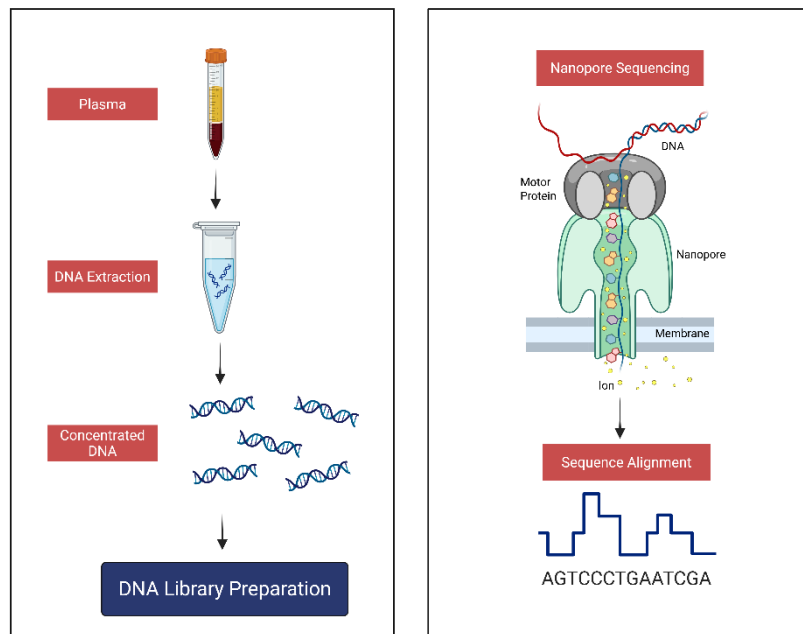
2.1.6 Metode Adaptive Sampling Nanopore sequencing

Metode *nanopore* dalam sequencing gen adalah teknologi inovatif yang memungkinkan analisis urutan DNA atau RNA dengan cara yang cepat dan efisien. Metode *nanopore* termasuk dalam kategori sequencing generasi keempat (*Fourth Generation Sequencing*). Teknologi ini menawarkan pendekatan yang berbeda dibandingkan dengan sekuensing generasi sebelumnya, yaitu generasi pertama (Sanger sequencing), generasi kedua (*Next Generation Sequencing* atau NGS), dan generasi ketiga seperti *PacBio* dan *Ion Torrent* (Lin et al., 2021).

Prinsip dasar dari metode ini melibatkan penggunaan *nanopore*, yaitu lubang berukuran nano atau dapat disebut sebagai pori kecil, yang ditempatkan pada membran tipis (Lin et al., 2021). Ketika molekul biomolekul yang bermuatan, seperti DNA, melewati *nanopore*, perubahan arus listrik yang dihasilkan dapat diukur. Setiap jenis basa nukleotida baik adenin, timin, sitosin, dan guanin menghasilkan pola arus yang berbeda, sehingga memungkinkan untuk menentukan urutan basa dalam molekul

DNA (Lin et al., 2021). Di sisi lain, deteksi perubahan arus ionik dalam *nanopore* tidak hanya terbatas pada basa saja, tetapi juga memungkinkan deteksi modifikasi basa seperti metilasi secara langsung (Kono & Arakawa, 2019). Salah satu platform paling terkenal yang menggunakan teknologi ini adalah *Oxford Nanopore Technology* (ONT) yang bisa membaca potongan DNA sangat panjang. Karena kemampuannya ini, ONT lebih mudah menangani bagian genom yang sulit, seperti bagian yang banyak pengulangan atau variasi (Lin et al., 2021). Selain itu, *nanopore sequencing* juga memiliki potensi besar dalam aplikasi klinis, seperti mendeteksi hubungan antara genetik dan resiko penyakit, karena kemampuannya dalam memberikan informasi genetik secara *real-time*, dengan biaya yang lebih terjangkau dan waktu analisis yang lebih singkat dibandingkan teknologi sekuensing generasi sebelumnya (Chaurasiya et al., 2023). Khususnya untuk mengidentifikasi variasi genetik *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP) yang perlu akurasi tinggi (Jain et al., 2018).

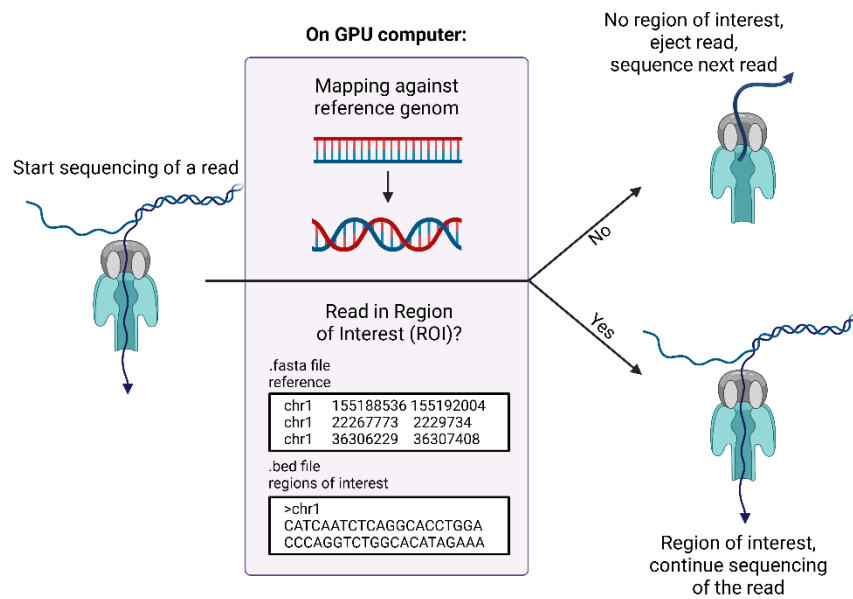
Teknologi sekuensing *nanopore* memiliki kemampuan untuk menganalisis molekul DNA utuh tanpa memerlukan amplifikasi atau sintesis DNA terlebih dahulu. Hal tersebut berarti tidak ada batasan yang jelas terkait panjang bacaan DNA yang dapat diurutkan. Maka kendala utama dalam panjang pembacaan terletak pada tahap persiapan sampel, di mana DNA yang memiliki berat molekul sangat tinggi harus diekstraksi dan disiapkan dengan sangat hati-hati lalu dimasukkan ke dalam sel aliran *sequencer* (Kono & Arakawa, 2019). Meski demikian, penelitian terdahulu menunjukkan keberhasilan dalam menghasilkan pembacaan yang melampaui satu juta basa, menunjukkan potensi luar biasa dari teknologi *nanopore* dalam menganalisis molekul DNA yang sangat panjang (Jain et al., 2018).



Gambar 2.4 Metode Nanopore sequencing

Sumber: Diolah dari Bunkar et al., 2018.

Metode *Adaptive Sampling* menjelaskan teknik tambahan dari teknologi pengurutan basa tunggal yang diperkenalkan oleh *Oxford Nanopore Technologies* (ONT) untuk memilih pembacaan spesifik selama proses menentukan urutan basa sampel DNA (Naarmann-De Vries et al., 2023). Teknologi sekuensing *nanopore* bisa menyesuaikan cara membaca tergantung pada jenis DNA atau RNA yang sedang dibaca. Dengan metode ini, bagian tertentu dari DNA bisa dipilih sesuai kebutuhan untuk dibaca lebih banyak atau diabaikan (Naarmann-De Vries et al., 2023). Beberapa ratus basa pertama dari suatu molekul dapat diperiksa dan diputuskan jika molekul tersebut tepat sasaran. Molekul yang tidak tepat sasaran dikeluarkan dengan membalikkan arus saat melintasi pori-pori dan membebaskan pori-pori untuk menangkap molekul baru (Martin et al., 2022).



Gambar 2.5 Metode *Adaptive Sampling Nanopore sequencing*
 Sumber: Diolah dari Meyer et al., 2023.



2.2 Hasil Penelitian Terdahulu

Tabel 2.4 Hasil Penelitian Terdahulu Terkait Polimorfisme Gen *PTP1B* dan *Nanopore sequencing*.

No	Judul Penelitian	Metode Penelitian	Hasil Penelitian	Kesimpulan Penelitian	Persamaan	Perbedaan
1	<i>Nanopore sequencing of RAGE Gene Polymorphism and Their Association with Type 2 Diabetes</i> (India, Chaurasiya et al., 2023)	<i>Cross-sectional study.</i> Jumlah subjek: 126 subjek penderita DMT2 dengan atau tanpa nefropati diabetic dan 71 subjek sehat menggunakan <i>nanopore sequencing</i> .	Terdapat total 33 polimorfisme gen RAGE dengan lima SNP rs1800625, rs3131300, rs3134940, rs2070600, dan rs9391855, berkontribusi pada peningkatan risiko diabetes tipe 2. Namun, tidak ada polimorfisme yang	Metode <i>nanopore sequencing</i> mendeteksi 33 polimorfisme dalam gen RAGE yang akurasinya tinggi untuk deteksi SNP yang divalidasi dengan PCR-RFLP. 5 SNP gen RAGE dikaitkan dengan peningkatan risiko DMT 2.	Menganalisis gen yang berkaitan dengan DMT2 menggunakan <i>nanopore sequencing</i> .	Penelitian dilakukan pada gen RAGE.

No	Judul Penelitian	Metode Penelitian	Hasil Penelitian	Kesimpulan Penelitian	Persamaan	Perbedaan
			menunjukkan asosiasi dengan nefropati diabetik (DN) ketika dibandingkan dengan kelompok DM			
2	<i>Genotyping of Familial Mediterranean Fever Gene (MEFV)-Single Nucleotide Polymorphism-Comparison of Nanopore with</i>	Eksperimental Jumlah subjek: 47 pasien yang rutin melakukan asesmen MEFV	Sekuensing <i>nanopore</i> menemukan 10 target regions MEFV dan 433 SNPs dengan tidak adanya negatif palsu. Parameter Presisi, Recall, dan F1-	Hasil ini menunjukkan akurasi tinggi dari sekuensing <i>nanopore</i> dalam mendeteksi genotipe SNP dengan pengurutan <i>amplicon</i>	Menganalisis polimorfisme menggunakan <i>nanopore sequencing</i> .	Penelitian dilakukan pada gen MEFV pada subjek <i>Familial Mediterranean Fever</i> .

No	Judul Penelitian	Metode Penelitian	Hasil Penelitian	Kesimpulan Penelitian	Persamaan	Perbedaan
	<i>Conventional Sanger Sequencing</i> (Jerman, Schmidt et al., 2022)		Score >0.99, menunjukkan keterkaitan yang sangat tinggi antara hasil sekuensing <i>nanopore</i> dan <i>sanger</i> . Namun, <i>nanopore</i> mengidentifikasi SNP baru (transversi dari guanine ke thymine) di wilayah 3' UTR pada 2 pasien yang tidak	dibandingkan dengan sekuensing <i>sanger</i> .		

No	Judul Penelitian	Metode Penelitian	Hasil Penelitian	Kesimpulan Penelitian	Persamaan	Perbedaan
			terdeteksi sebelumnya.			
3	<i>Association of protein tyrosine phosphatase 1B gene polymorphism with the effects of weight reduction therapy on bodyweight and glycolipid profiles in obese patients</i> (Jepang, (Yamakage et al., 2021))	<i>Prospective cohort study</i> Jumlah subjek: 447 pasien rawat jalan yang obesitas dan overweight	Pada gen <i>PTPN1</i> terdapat SNP rs3787348 dengan alel minor yang muncul pada 45,5% populasi. Individu yang membawa alel T pada SNP ini menunjukkan penurunan pada IMT, berat badan, dan lingkar pinggang selama menjalani terapi	SNP rs3787348 pada gen <i>PTPN1</i> dikaitkan dengan keberhasilan terapi penurunan berat badan, khususnya dalam hal penurunan IMT dan lingkar pinggang, pada populasi obesitas di Jepang. Alel T dari SNP ini menunjukkan hubungan yang	Menganalisis pengaruh gen <i>PTP1B</i> (<i>PTPN1</i>).	Penelitian dilakukan pada subjek yang memiliki berat badan berlebih dan obesitas.

No	Judul Penelitian	Metode Penelitian	Hasil Penelitian	Kesimpulan Penelitian	Persamaan	Perbedaan
			penurunan berat badan.	signifikan dengan efek terapi tersebut.		
4	<i>Scanning SNPs of Diabetes Mellitus related genes; HNF4A, PTPN, KCNJ11, PPAR gamma; among Thalassemia Patients: a Preliminary Study (Indonesia, Rujito et al., 2019)</i>	<i>Cross sectional study</i> Jumlah subjek: 100 pasien thalassemia menggunakan PCR-RFLP	Distribusi genotipe <i>PTPN</i> gen 1023 C>A sebesar 68% CC, 30% CA, 2% AA dan MAF 17%. Gen <i>PTPN</i> dari 467 T>C memiliki persentase CC 90%, CT 10%, dan MAF 5%.	Terdapat beberapa mutasi pada gen-gen yang terkait dengan DM (<i>HNF4A</i> , <i>PTPN</i> , <i>KCNJ11</i> , dan <i>PPAR gamma</i>) pada populasi thalassemia di Banyumas. Khusus untuk gen <i>PTPN</i> ,	Menganalisis pengaruh polimorfisme gen <i>PTPN</i> .	Penelitian dilakukan pada subjek thalassemia.

No	Judul Penelitian	Metode Penelitian	Hasil Penelitian	Kesimpulan Penelitian	Persamaan	Perbedaan
				ditemukan alel minor pada posisi 467 dengan frekuensi sebesar 13% dengan <i>Hardy-Weinberg Equilibrium</i> (HWE) 1%.		

Sumber: Diolah oleh Peneliti

Penelitian ini berbeda dari penelitian diatas karena penelitian polimorfisme gen *PTP1B* pada pasien diabetes melitus tipe 2 yang menggunakan metode *adaptive sampling nanopore sequencing* belum dilakukan di Indonesia.



2.3 Kerangka Berpikir



Bagan 2.1 Kerangka Berpikir Penelitian
Sumber: Diolah oleh peneliti