

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Landasan Teori

2.1.1 Diabetes Melitus

2.1.1.1 Definisi Diabetes Melitus

Diabetes melitus (DM) adalah gangguan metabolik yang ditandai oleh meningkatnya kadar glukosa dalam darah. DM terdiri atas beberapa jenis, yakni tipe 1, tipe 2, diabetes yang muncul pada usia dewasa (MODY), diabetes gestasional, diabetes neonatal, serta diabetes akibat kondisi sekunder seperti endokrinopati atau efek samping obat steroid. Dua jenis DM yang paling sering ditemukan adalah diabetes melitus tipe 1 (DMT1) dan diabetes melitus tipe 2 (DMT2). DMT1 terjadi akibat kerusakan pada sel β pankreas, sedangkan DMT2 terjadi akibat resistensi insulin yang diperparah dengan produksi insulin yang tidak memadai (Sapra & Bhandari, 2023).

DMT1 lebih banyak ditemukan pada anak-anak maupun remaja, sedangkan DMT2 biasanya terjadi pada orang dewasa paruh baya atau lanjut usia (lansia) yang mengalami hiperglikemia kronis akibat gaya hidup yang tidak sehat. Patogenesis DMT1 dan DMT2 sangat berbeda, sehingga masing-masing tipe memiliki penyebab, gejala, dan pengobatan yang berbeda (Sapra & Bhandari, 2023).

2.1.1.2 Klasifikasi Diabetes Melitus

Diabetes melitus terbagi ke dalam beberapa kategori umum, antara lain sebagai berikut (Tandra, 2020):

a. Diabetes Melitus Tipe 1

Diabetes melitus tipe 1 (DMT1) terjadi ketika pankreas tidak mampu menghasilkan insulin dalam jumlah memadai, atau bahkan tidak memproduksi sama sekali. Akibatnya, glukosa tidak dapat masuk ke dalam sel, sehingga menumpuk dalam aliran darah. Kondisi ini umumnya muncul pada usia

anak-anak atau remaja dan dapat dialami oleh pria maupun wanita. Gejala penyakit ini sering berkembang dengan cepat, dan jika tidak segera diobati dengan suntikan insulin, kondisi tersebut dapat memburuk hingga menyebabkan koma pada penderitanya (Hartono & Ediyono, 2024).

b. Diabetes Melitus Tipe 2

Diabetes melitus tipe 2 (DMT2) merupakan bentuk diabetes yang paling umum, mencakup sekitar 90–95% dari seluruh kasus. Biasanya menyerang individu lanjut usia, meskipun saat ini telah ditemukan pula pada remaja dan anak-anak. DMT2 terjadi ketika tubuh tidak dapat menggunakan insulin secara efisien (resistensi insulin) atau produksi insulin tidak mencukupi, atau kombinasi keduanya yang terjadi pada sel β pankreas. Pada penderita DMT2, sel-sel tubuh tidak mampu memanfaatkan insulin secara efektif sebagai sumber energi atau mengalami penurunan respons terhadap insulin yang diproduksi pankreas, kondisi ini dikenal disebut resistensi insulin. Akibatnya, glukosa yang seharusnya dimanfaatkan oleh sel-sel tubuh tetap berada dalam darah dan menumpuk seiring waktu. Di sisi lain, resistensi insulin ini juga memicu pankreas untuk memproduksi insulin dalam jumlah yang berlebihan. Namun, apabila dalam kondisi tidak terkontrol, pankreas pada akhirnya mengalami penurunan dalam memproduksi insulin (Kahn *et al.*, 2014).

Insulin yang dilepaskan oleh sel β setelah stimulasi mengatur penyerapan molekul organik seperti glukosa, asam amino, dan asam lemak oleh jaringan yang sensitif terhadap insulin. Molekul-molekul tersebut kemudian memberikan sinyal balik kepada sel β untuk menyesuaikan jumlah insulin yang diperlukan. Hormon insulin yang disekresikan oleh sel β pankreas berfungsi menurunkan produksi glukosa oleh hati dan

meningkatkan penyerapan glukosa oleh otot dan jaringan lemak. Tingkat sensitivitas terhadap insulin berperan penting dalam mengatur jumlah insulin yang dibutuhkan untuk mempertahankan kestabilan kadar glukosa dalam tubuh. Apabila terjadi resistensi insulin pada jaringan yang seharusnya merespons insulin, maka sistem umpan balik ini akan mengalami gangguan (Kahn *et al.*, 2014).

c. Diabetes Melitus Gestasional

Diabetes melitus gestasional merupakan gangguan metabolisme yang muncul selama masa kehamilan, terutama disebabkan oleh perubahan hormonal yang menyebabkan resistensi terhadap insulin. Kondisi ini umumnya terdiagnosis pada trimester kedua atau ketiga kehamilan, meskipun sering kali tidak disertai gejala khas diabetes yang tampak secara klinis (Johnson *et al.*, 2020).

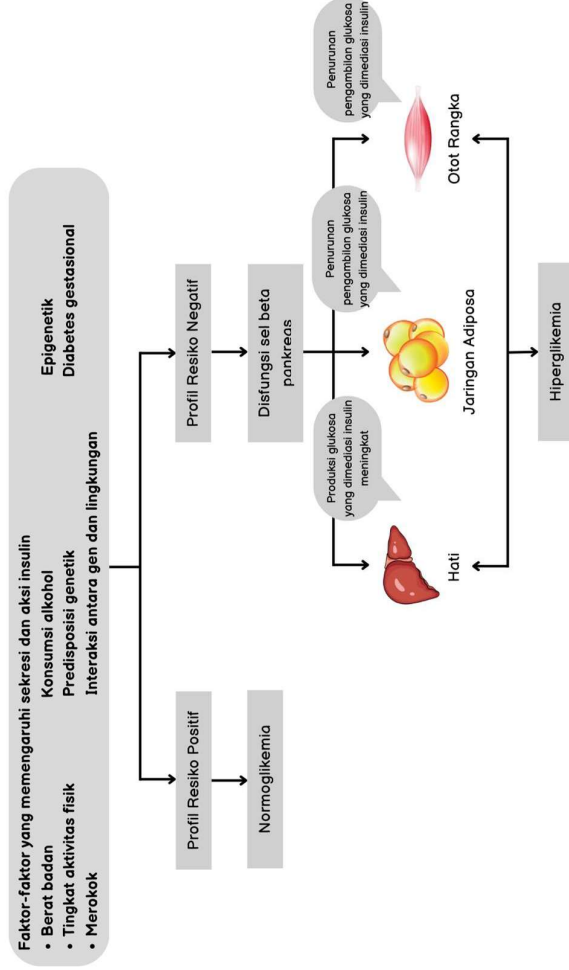
d. Diabetes Tipe Lain

Tipe diabetes lain terjadi akibat penyakit atau kondisi tertentu yang memengaruhi produksi maupun efektivitas insulin dalam tubuh. Beberapa penyebab yang umum meliputi gangguan fungsi kelenjar adrenal atau hipofisis, penggunaan obat-obatan seperti kortikosteroid, antihipertensi, dan antikoagulan, serta malnutrisi dan infeksi tertentu (Hartono & Ediyono, 2024).

2.1.1.3 Patofisiologi Diabetes Melitus Tipe 2

Patofisiologi DM T2 disebabkan oleh gangguan pada sistem umpan balik antara sekresi insulin dan respon jaringan terhadap hormon tersebut, yang menyebabkan kadar glukosa dalam darah meningkat secara tidak normal. Ketika sel β pankreas tidak mampu memproduksi insulin secara optimal, tubuh gagal mempertahankan kadar glukosa dalam rentang normal. Sementara itu, resistensi insulin menyebabkan peningkatan produksi glukosa di hati dan penurunan kemampuan penyerapan glukosa

di jaringan otot, hati, serta lemak. Bahkan jika kedua proses terjadi pada awal patogenesis dan berkontribusi pada perkembangan penyakit, disfungsi sel β biasanya lebih parah daripada resistensi insulin. Namun, ketika disfungsi sel β dan resistensi insulin hadir, hiperglikemia diperkuat yang mengarah pada perkembangan DMT2 (Galicia-Garcia *et al.*, 2020).



Gambar 2.1 Patofisiologi Hiperglikemi pada Pasien DMT2

Sumber: diolah oleh peneliti

Sekresi insulin di sel β pankreas berperan dalam menurunkan produksi glukosa di hati serta meningkatkan penyerapan glukosa oleh otot rangka dan jaringan lemak. Akan tetapi, ketika terjadi gangguan fungsi sel β atau resistensi insulin pada hati, otot rangka, atau jaringan adiposa, maka kadar glukosa darah dapat meningkat, yang pada akhirnya memicu terjadinya hiperglikemia (Zheng *et al.*, 2018).

2.1.1.4 Epidemiologi Diabetes Melitus Tipe 2

Diabetes melitus tipe 2 (DMT2) berkontribusi lebih dari 90% dari seluruh populasi yang menderita diabetes. Prevalensi DMT2 pada populasi dewasa kulit putih berada dalam rentang 3-6%. Berdasarkan IDF (2021), di seluruh dunia terdapat 336 juta individu yang menderita DMT2 dan hal

tersebut berkontribusi pada 4,6 juta kematian setiap tahunnya, atau sekitar satu kematian setiap tujuh detik (IDF, 2021).

Menurut estimasi *World Health Organization* (WHO), jumlah penderita diabetes di Indonesia diperkirakan meningkat dari 8,4 juta orang pada tahun 2000 menjadi 21,3 juta orang pada tahun 2030 (WHO, 2008). Sementara itu, berdasarkan laporan IDF (2021), Indonesia menempati posisi kelima di dunia dengan jumlah penderita sekitar 19,5 juta orang, dan jumlah ini diperkirakan akan meningkat menjadi 28,6 juta orang pada tahun 2045. Studi epidemiologi sebelumnya juga menunjukkan lonjakan prevalensi di Jakarta, yaitu dari 1,6% pada tahun 1982 menjadi 12,8% pada tahun 2005.

Peningkatan prevalensi diabetes melitus di sejumlah negara berkembang belakangan ini banyak mendapat perhatian, terutama akibat meningkatnya taraf hidup di negara-negara tersebut. Kenaikan pendapatan per kapita dan perubahan pola hidup, khususnya di wilayah perkotaan, berperan pada tingginya frekuensi penyakit degeneratif seperti diabetes melitus. Kondisi ini menjadikan diabetes sebagai tantangan besar dalam sektor kesehatan nasional (Decroli, 2019).

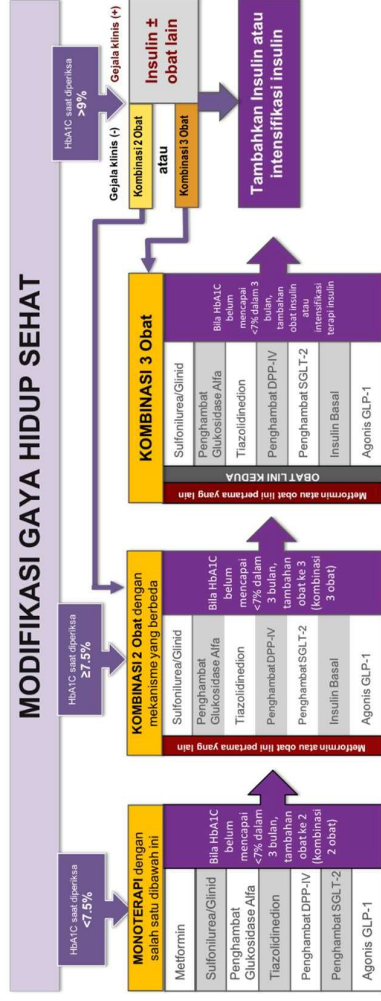
2.1.1.5 Manifestasi Klinis

Komplikasi akibat DM T2 dapat bervariasi dan berlangsung jangka panjang, bahkan pada awalnya tanpa gejala yang nyata (Wulandari & Martini, 2013). Gejala yang umum ditemukan antara lain rasa haus berlebih akibat ketidakseimbangan elektrolit (polidipsia), rasa lapar yang meningkat (polifagia) karena rendahnya pasokan glukosa ke dalam sel, serta keberadaan glukosa dalam urin (glikosuria) ketika kadar glukosa darah melebihi ambang ginjal, yaitu sekitar 180 mg/dL. Akibat tingginya kadar glukosa, terjadi peningkatan volume urin (poliuria) karena meningkatnya osmolaritas filtrat ginjal yang menghambat reabsorpsi air di tubulus. Kondisi ini juga menyebabkan dehidrasi, karena air dari ruang ekstraseluler dan intraseluler keluar mengikuti gradien osmotik. Gejala lainnya termasuk kelelahan akibat terganggunya proses pemanfaatan karbohidrat dalam

tubuh, penurunan berat badan yang disebabkan oleh dehidrasi serta pemecahan jaringan otot dan lemak menjadi sumber energi, gangguan penglihatan, kram otot, sembelit, dan infeksi seperti kandidiasis (Baynest, 2015).

2.1.1.6 Farmakoterapi Diabetes Melitus Tipe 2

a. Algoritma Terapi



Gambar 2.2 Algoritma Pengobatan Diabetes Melitus Tipe 2

Sumber: PE Indonesia, 2021

Pada penderita DM T2, apabila hasil pemeriksaan HbA1c menunjukkan nilai di bawah 7,5%, penanganan awal yang disarankan adalah modifikasi gaya hidup menjadi lebih sehat disertai pemberian terapi oral tunggal. Namun, jika kadar HbA1c belum tercapai (<7%) setelah 3 bulan terapi tunggal, maka pengobatan dilanjutkan dengan kombinasi dua obat, yaitu metformin atau obat lini pertama lainnya ditambah dengan obat lain yang bekerja melalui mekanisme berbeda. Apabila target HbA1c <7% masih belum tercapai setelah 3 bulan, maka terapi ditingkatkan menjadi kombinasi tiga obat, yaitu metformin atau obat lini pertama lain ditambah obat lini kedua serta obat lain dengan mekanisme kerja yang berbeda. Pada pasien dengan HbA1c >9% yang tidak disertai gejala penurunan berat badan, diberikan terapi kombinasi 2 obat atau 3 obat seperti yang sudah dijelaskan sebelumnya. Namun, jika pasien

mengalami penurunan berat badan, terapi selanjutnya dilakukan dengan pemberian insulin serta obat hipoglikemik lainnya. Terakhir, jika terapi step 4, baik dengan atau tanpa insulin, tidak mencapai target HbA1c <7% dalam waktu 3 bulan, maka harus segera dilanjutkan dengan penambahan dosis insulin atau terapi intensifikasi insulin (PE Indonesia, 2021).

b. Golongan Obat Antidiabetik Oral

Berdasarkan studi yang dilakukan oleh Jannah *et al.* (2021), metformin merupakan obat antidiabetik (OAD) oral tunggal yang menunjukkan efektivitas paling tinggi dalam terapi farmakologis. Sementara itu, jenis obat antidiabetik lainnya seperti thiazolidinedione, sulfonilurea, glinid, penghambat alfa-glukosidase, inhibitor DPP-4, serta inhibitor SGLT-2 berperan dalam membantu mengatasi gangguan fungsi sel β pankreas. Sementara itu, metformin efektif dalam menekan glukoneogenesis pada gangguan hati (Cersosimo *et al.*, 2014).

Tabel 2.1 Profil Obat Antidiabetik Oral

Golongan Obat	Cara Kerja Utama	Efek Samping Utama	Penurunan HbA1c
Metformin	Menurunkan produksi glukosa hati dan meningkatkan sensitifitas terhadap insulin	Dispesia, diare, asidosis laktat	1,0 – 1,3%
Thiazolidinedione	Meningkatkan sensitifitas terhadap insulin	Edema	0,5 – 1,4%
Sulfonilurea	Meningkatkan sekresi insulin	BB naik, hipoglikemia	0,4 – 1,2%

Golongan Obat	Cara Kerja Utama	Efek Samping Utama	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 – 0,9%
Penghambat SGLT-2	Menghambat reabsorpsi glukosa di tubulus distal	Infeksi saluran kemih dan genital	0,5 – 0,9%

Sumber: diolah oleh peneliti

c. Insulin

Menurut penelitian Sugianta & Darmita (2020), penderita DMT2 dengan komplikasi sangat dianjurkan untuk menggunakan terapi insulin. Pemberian insulin pada pasien DMT2 dapat menyebabkan efek samping seperti obesitas, hipoglikemia, lipodistrofi, osteoporosis, serta reaksi alergi terhadap insulin, meskipun efek samping ini jarang terjadi pada pasien DMT2 (Handelsman *et al.*, 2015). Jika efek samping tersebut muncul, penyesuaian dosis basal pada pasien rawat jalan dapat dilakukan dengan menambah 2-4 unit setiap 3-4 hari hingga sasaran tercapai. Apabila sasaran kadar glukosa darah basal (puasa) sudah terpenuhi, namun target HbA1c belum tercapai, maka pengendalian glukosa darah prandial akan diterapkan. Basal insulin merupakan regimen yang mudah diberikan, dimulai dari dosis 10 unit per hari atau 0,1-0,2 unit/kg/hari, tergantung tingkat hiperglikemia pasien (Zaim *et al.*, 2021).

Insulin umumnya diberikan melalui suntikan subkutan atau menggunakan pompa insulin, dan dalam beberapa kasus melalui intravena. Terdapat dua pilihan terapi insulin, yaitu insulin manusia dan insulin analog, di mana insulin analog menawarkan fleksibilitas penggunaan yang lebih tinggi (Janež *et al.*, 2020). Menurut PE Indonesia, (2021), terapi insulin basal dapat diawali dengan pemberian Insulin Manusia (*Human Insulin*).

1) Analog Insulin

Analog insulin terdiri dari beberapa jenis berdasarkan durasi kerjanya, yaitu:

Tabel 2.2 Karakteristik Sediaan Insulin

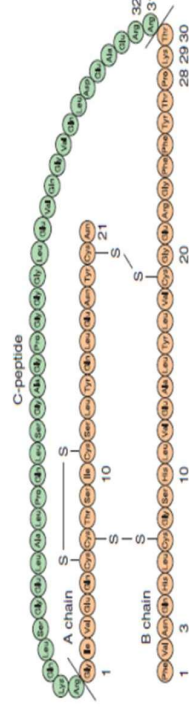
Tipe Insulin	Awal Kerja	Puncak	Durasi	Durasi Maksimum
Insulin Kerja Cepat				
1) Insulin Aspart (Novorapid®)	15 – 30 menit	1 – 2 jam	3 – 5 jam	5 – 6 jam
2) Insulin Lispro (Humalog®)	15 – 30 menit	1 – 2 jam	3 – 4 jam	4 – 6 jam
3) Insulin Glulisin (Apidra®)	15 – 30 menit	1 – 2 jam	3 – 4 jam	5 – 6 jam
Insulin Kerja Pendek				
1) Sansulin®	30 – 60 menit	2 – 3 jam	3 – 6 jam	6 – 8 jam
2) Humulin®	30 – 60 menit	2 – 3 jam	3 – 6 jam	6 – 8 jam
3) Actrapid®	30 – 60 menit	2 – 3 jam	3 – 6 jam	6 – 8 jam
Insulin Kerja Menengah				
1) Insulin Basal®	2 – 4 jam	4 – 6 jam	8 – 12 jam	14 – 18 jam
2) Humulin N®	2 – 4 jam	4 – 6 jam	8 – 12 jam	14 – 18 jam
3) Insulatard®	2 – 4 jam	4 – 6 jam	8 – 12 jam	14 – 18 jam

Type Insulin	Awal Kerja	Puncak	Durasi	Durasi Maksimum
Insulin Kerja Panjang				
1) Insulin Glargine (Lantus®)	2 – 5 jam	-	22 – 24 jam	
2) Insulin Detemir (Levemir®)	2 jam	6 – 9 jam	14 – 24 jam	24 jam

Sumber: diolah oleh peneliti

2) Insulin Manusia atau *Human Insulin*

Insulin Manusia memiliki efektivitas yang sebanding dengan insulin analog dalam menangani komplikasi yang berhubungan dengan diabetes melitus. Penyesuaian terapi insulin, baik secara tunggal maupun kombinasi, dilakukan berdasarkan kebutuhan dan respons setiap individu pasien yang dievaluasi melalui pemantauan kadar glukosa darah. Dalam terapi kombinasi, insulin basal biasanya dimulai dengan dosis awal 6 hingga 10 unit dan selanjutnya dievaluasi berdasarkan kadar glukosa darah puasa (GDP) pada pagi hari setelahnya. Apabila kadar GDP belum memenuhi target, dosis insulin secara bertahap akan ditingkatkan (biasanya sebanyak 2 unit). Apabila kendali glukosa darah harian tetap tidak tercapai meskipun telah diberikan insulin basal, maka perlu dipertimbangkan penambahan terapi insulin kombinasi lainnya (PE Indonesia, 2021).



Gambar 2.3 Struktur Insulin

Sumber: Katzung, 2013

2.1.2 Farmakokinetika

Farmakokinetik merupakan studi mengenai perjalanan obat dalam tubuh atau bagaimana tubuh memengaruhi obat. Proses farmakokinetik meliputi empat tahapan, yaitu absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi (Shargel *et al.*, 2022).

a. Absorpsi

Absorpsi adalah proses ketika obat berpindah dari tempat pemberian ke sirkulasi sistemik. Kecepatan dan jumlah obat yang berhasil diserap tubuh dipengaruhi oleh berbagai aspek, antara lain luas permukaan usus, laju pengosongan lambung, aktivitas peristaltik saluran pencernaan, serta aliran darah ke area absorpsi (Shargel *et al.*, 2022).

b. Distribusi

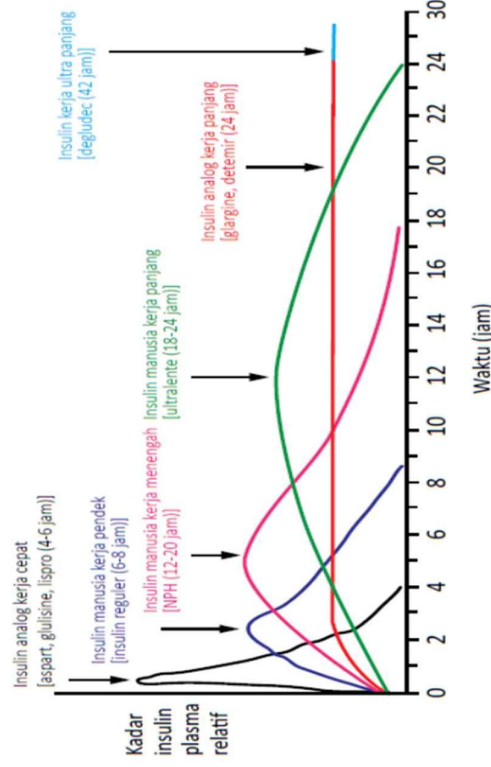
Distribusi adalah tahap penyebaran obat dari sistem peredaran darah menuju jaringan dan cairan tubuh. Proses ini dipengaruhi oleh beberapa hal, seperti aliran darah ke jaringan, permeabilitas kapiler, serta ikatan obat dengan protein plasma. Kadar obat dalam darah atau plasma dipengaruhi oleh total jumlah obat dalam tubuh serta luas distribusinya (Shargel *et al.*, 2022).

c. Metabolisme

Metabolisme obat adalah proses biotransformasi yang mengubah struktur obat menjadi bentuk yang lebih larut dalam air sehingga dapat dikeluarkan dari tubuh, baik melalui ginjal maupun empedu. Umumnya, metabolisme ini membuat obat yang aktif menjadi tidak aktif. Faktor-faktor yang memengaruhi metabolisme meliputi pengaruh genetik, kondisi lingkungan, adanya penyakit tertentu, serta usia individu (Shargel *et al.*, 2022).

d. Ekskresi

Ekskresi merupakan proses pengeluaran atau pembuangan obat dari dalam tubuh. Umumnya, obat diekskresikan melalui ginjal dan dibuang dalam bentuk urin, tetapi juga dapat diekskresikan melalui paru-paru, kelenjar eksokrin (keringat, air liur, dan payudara), kulit, serta saluran pencernaan (Shargel et al., 2022).



Gambar 2.4 Pola Farmakokinetik Sediaan Insulin

Sumber: PE Indonesia, 2021

Setiap jenis insulin memiliki karakteristik farmakokinetik yang berbeda, yang memengaruhi durasi dan kecepatan kerjanya dalam menurunkan kadar glukosa darah. Insulin analog kerja cepat (seperti aspart, glulisine, dan lispro) mencapai puncak konsentrasi dengan cepat dalam 4–6 jam, yang cocok untuk mengontrol kenaikan glukosa setelah makan. Sebaliknya, insulin kerja panjang (seperti glargine dan detemir) dan insulin kerja ultra panjang (seperti degludec) dirancang untuk memberikan kontrol glukosa basal selama 24 – 42 jam, membantu mencegah hiperglikemia puasa (PE Indonesia, 2021).

Insulin berperan penting dalam distribusi dan metabolisme glukosa dalam tubuh. Setelah absorpsi dari saluran pencernaan, glukosa didistribusikan melalui darah, di mana insulin meningkatkan transportasi

glukosa ke dalam sel melalui aktivasi GLUT4. Di dalam sel, glukosa mengalami metabolisme untuk menghasilkan energi melalui proses glikolisis atau disimpan sebagai glikogen di jaringan hati dan otot. Insulin juga menekan glukoneogenesis dan glikogenolisis di hati, sehingga membantu menjaga kestabilan kadar glukosa darah. Pemberian insulin sesuai dengan profil farmakokinetiknya sangat krusial, terutama pada pasien diabetes melitus yang mengalami gangguan sekresi insulin endogen. Kombinasi jenis insulin yang sesuai akan mendukung pengelolaan kadar glukosa darah yang lebih efektif dan mengurangi risiko komplikasi kronis (PE Indonesia, 2021).

2.1.3 Farmakogenetika

Farmakogenetika muncul sebagai respons terhadap meningkatnya kasus efek samping obat yang merugikan (*Adverse Drug Reaction/ADR*). Obat bisa memberikan efek terapeutik, efek samping yang tidak diinginkan, bahkan toksisitas, atau tidak memberikan efek sama sekali. Variasi efek obat tersebut dipengaruhi oleh sejumlah faktor, seperti karakteristik demografis, pola hidup, kondisi lingkungan, dan variasi genetik (Irham *et al.*, 2022).

Variasi genetik pada manusia dapat berupa polimorfisme, yaitu perbedaan antar individu dalam suatu DNA dengan frekuensi lebih dari 1%. Polimorfisme juga dapat didefinisikan sebagai adanya variasi dua atau lebih alel dalam satu spesies. Alel merupakan bentuk alternatif dari suatu gen yang menempati lokasi spesifik pada kromosom, yang dikenal sebagai lokus, biasanya berada di sekitar area yang disebut *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP). Polimorfisme bisa terjadi pada tingkatan DNA, protein, atau fenotipe. Pada tingkat DNA, perubahan satu basa nukleotida pada urutan tertentu dikenal sebagai SNP (Irham *et al.*, 2022).

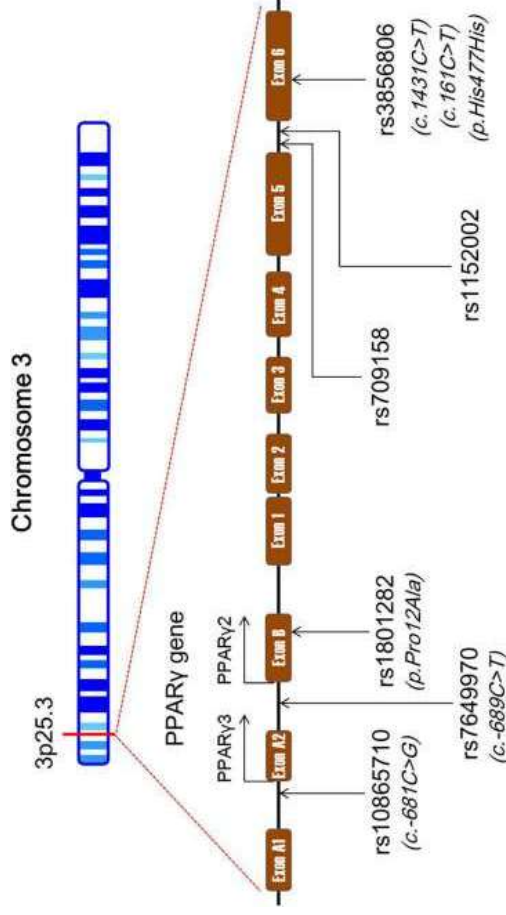
Salah satu aplikasi dari farmakogenetika adalah pengujian respon individu terhadap terapi obat melalui analisis genotipe yang dilakukan sebelum pengobatan dimulai (De Graaff *et al.*, 2013). Hasil uji genotipe dapat menghasilkan dua kemungkinan, yaitu pasien yang merespon

dengan baik terhadap obat atau pasien yang mengalami efek samping obat yang merugikan atau tidak menunjukkan respon yang optimal. Polimorfisme genetik dapat memengaruhi respon terhadap terapi obat, karena gen yang bervariasi dapat mengkode enzim penting dalam proses ADME (Lynch & Price, 2007). Oleh sebab itu, penyesuaian dosis atau alternatif terapi kerap kali diperlukan hasil yang optimal. Proses evaluasi aktivitas genetik sangat penting dilakukan untuk mengidentifikasi fenotipe yang muncul akibat variasi gen tersebut (Irfham *et al.*, 2022).

Melalui uji genotipe, pemberian obat dapat diindividualisasi berdasarkan profil genetik pasien, baik dengan menyesuaikan dosis maupun mengganti jenis obat yang digunakan (Chadwell, 2013). Di samping itu, kemungkinan munculnya penyakit juga dapat diantisipasi melalui pengujian genotipe pada populasi tertentu (De Graaff *et al.*, 2013). Selain itu, pengujian ini juga dapat dimanfaatkan untuk mendeteksi risiko penyakit dalam kelompok populasi tertentu, sehingga dapat digunakan sebagai strategi pencegahan dan pemantauan perkembangan penyakit (Chadwell, 2013).

Sejak selesainya proyek *Human Genome Project* (HGP) pada tahun 2003, yang berhasil menetapkan berbagai SNP dalam DNA manusia, tujuan utama dari penemuan SNP adalah pemanfaatannya dalam bidang klinis sebagai penanda (*marker*) untuk respons terhadap obat (Sachidanandam *et al.*, 2001). Hal inilah yang menjadi tujuan utama farmakogenomik, yaitu memahami hubungan antara gen dan obat dalam menentukan hasil akhir terapi. Saat ini, SNP tidak hanya digunakan sebagai penanda prediktif respons terhadap pengobatan, tetapi juga sebagai petunjuk yang menjanjikan dalam penemuan obat baru (Irfham *et al.*, 2022).

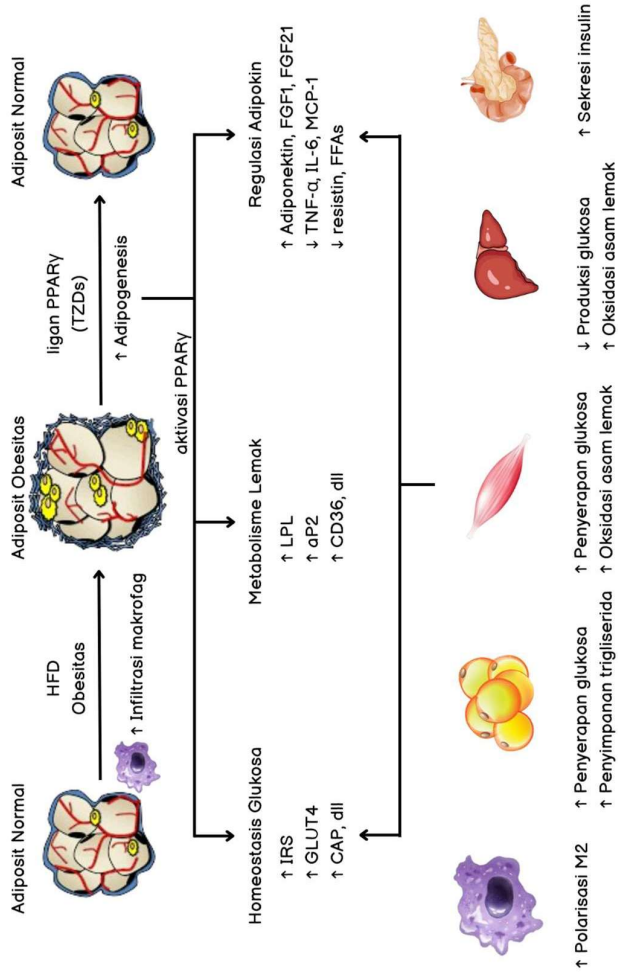
2.1.4 Gen *PPAR-γ*



Gambar 2.5 Single Nucleotide Polymorphisms pada gen *PPAR-γ*

Sumber: Song et al., 2022

Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-γ (*PPAR-γ*) adalah faktor transkripsi yang berlokasi di membran inti sel dan berperan dalam menekan respons peradangan. Gen *PPAR-γ* terletak pada kromosom 3p25 yang mengkode reseptor nuklir *PPAR-γ* dan terdiri dari sembilan ekson (**Gambar 2.5**). Terdapat penyambungan alternatif dalam proses pematangan mRNA *PPAR-γ*. Menurut basis data RefSeq NCBI, enam belas varian penyambungan mRNA *PPAR-γ* telah diidentifikasi sejauh ini pada manusia karena penggunaan promotor diferensial dan penyambungan alternatif. *PPAR-γ* sangat polimorfik. Lokus-lokus ini dapat dibagi menjadi polimorfisme wilayah promotor (misalnya, rs10865710 dan rs7649970), polimorfisme wilayah eksonik (misalnya, rs1801282 dan rs3856806), dan polimorfisme wilayah intronik (misalnya, rs1152002 dan rs709158) menurut distribusinya dalam gen (Song, Li, et al., 2022).



Gambar 2.6 Mekanisme Ligan PPAR- γ Mengatur Sensitivitas Insulin

Sumber: diteliti oleh peneliti

Aktivasi PPAR- γ oleh ligan dapat menghambat faktor transkripsi NF κ B, yang pada gilirannya mengurangi ekspresi gen sitokin inflamasi dan menurunkan respons inflamasi (Choi et al., 2014). Pada jaringan adiposa, aktivasi PPAR- γ oleh thiazolidinedione (TZD) memodulasi metabolisme glukosa dan lipid. PPAR- γ juga mengatur kadar adipoklin, termasuk adiponektin, TNF- α , MCP-1, dan resistin. Dampak dari penurunan kadar asam lemak bebas dalam aliran darah dan perubahan profil adipoklin, sensitivitas terhadap insulin meningkat. Peningkatan ini juga dimediasi dengan cara menurunkan produksi glukosa oleh hati, meningkatkan penyerapan glukosa oleh otot rangka dan jaringan lemak, serta merangsang sekresi insulin oleh pankreas. Di samping itu, aktivasi PPAR- γ oleh thiazolidinedione (TZD) juga menekan infiltrasi makrofag ke dalam jaringan adiposa dan mendorong polarisasi menjadi fenotipe antiinflamasi M2 (Choi et al., 2014).

Gen *PPAR-γ* merupakan kandidat yang menarik terkait dengan kerentanan terhadap DMT2 dan fenotipe lainnya, karena produk-produk *PPAR-γ* memiliki peran penting dalam modulasi sensitivitas insulin, peradangan, serta diferensiasi dan proliferasi adiposit melalui pengaturan ekspresi gen yang terkait dengan perkembangan spesifik adiposit. Dua isoform, yaitu *PPARγ1* dan *PPARγ2* dihasilkan melalui penyambungan alternatif *messenger RNA PPAR-γ*. Aktivasi farmakologis *PPAR-γ* dengan thiazolidinedione dapat meningkatkan sensitivitas insulin, kemungkinan melalui peningkatan fosforilasi tirosin yang distimulasi insulin pada gen-gen yang terlibat dalam jalur sinyal insulin (Choi *et al.*, 2014).

Variasi genetik, termasuk *Single Nucleotide Polymorphism (SNP)*, merupakan faktor utama yang menentukan kerentanan terhadap berbagai penyakit umum, seperti diabetes, dan memainkan peran penting dalam arsitektur genetik predisposisi penyakit (Sahangi *et al.*, 2020). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa SNP pada gen *PPAR-γ* berperan signifikan dalam pengaturan metabolisme lipid dan glukosa.

Berdasarkan data yang diperoleh dari NCBI, urutan mRNA normal gen *PPAR-γ* yang mengkodekan reseptor nuklir *PPAR-γ* adalah sebagai berikut:

```
gccttaacct ctgctgtga ccagaagcct gcatttgc attgcctta attcccttc cttagattg
aaagaagcca acactaaacc acaaatatc acaaggcca ttctcaaa cgagagtcag
cctttaacga aatgaccatg gtgacacag agatgccatt ctgcccacc aacttggga
tcagctccgt ggatctctcc gtaatggaag accactcca ctctttgat atcaagccct
tcactactgt tgacttctcc agcatttcta ctccacatta cgaagacatt ccattcacaa
gaacagatcc agtggttga gattacaagt atgacctgaa acttcaagag taccaaagtg
caatcaaaagt ggagcctgca tctccacctt attattctga gaagactcag ctctacaata
agcctcatga agagccttcc aactcctca tggcaattga atgtgtgtc tgtggagata
aagcttctgg atttcactat ggagttcatg cttgtgaagg atgcaagggt ttctccgga
gaacaatcag attgaagctt atctatgaca gatgtgatct taactgtcgg atccacaaaa
aaagtagaaa taaatgtcag tactgtcggt ttacagaaatg ccttgacgtg gggatgtctc
ataatgccat caggtttggg cggatgccac aggcgagaa ggagaagctg ttggcggaga
```

tctccagtga tatcgaccag ctgaatccag agtccgctga cctccgggcc ctggcaaaac
 atttgtatga ctcatacata aagtctctcc cgctgaacaa agcaaaggcg agggcgatct
 tgacaggaaa gacaacagac aaatcacat tegtatatga tgacatgaat tcttaatga
 tgggagaaga taaatcaag ticaaacaca tcacccctc gcaggagcag agcaaagagg
 tggccatccg catctttcag ggcctgccagt ttgcctccgt ggaggctgtg caggagatca
 cagagtatgc caaagcatt cctggttttg taaatcttga cttgaacgac caagtaactc
 tctcaataa tgagtcac gagatcatt acacaatgt ggctccttg atgaataaag
 atggggtct catatccgag ggccaaggct tcatgacaag ggagtttcta aagagccgtc
 gaaagccttt tggtgacttt atggagccca agtttgagt tgcgtgaag ttcaatgcac
 tggaaatga tgacagcag ttggcaatat ttatgtctgt cattattctc agtggagacc gccaggttt
 gctgaatgtg aagcocatg agacattca agacaactg ctacaagccc tggagctcca
 gctgaagctg aaccacctg agtctcaca gctgttggc aagcgtcc agaaaatgac
 agacctcaga cagattgca tgggaacacgt gcagctactg caggtgatca agaagacgga
 gacagacatg agtctcag cgctcttga ggagactac aggaactgt actagcagag
 agtctgagc cactgcac atttccctc ttccagttgc actatttga ggaaaaatc
 gacacctaa gaaattactg tgaaaaagca ttttaaaag aaaagggttt agaatatgat
 ctattttatg catattgtt atagagacac atttacaatt tacttttaatt ataaaaatt accatatat
 gaaa

2.1.5 Elektroforesis Gel

Elektroforesis merupakan metode yang digunakan untuk memastikan bahwa DNA telah berhasil diisolasi, memastikan DNA tidak terdegradasi, yang ditandai dengan pita DNA yang utuh tanpa *smear*, dan mengevaluasi kemungkinan adanya kontaminasi RNA atau protein (biasanya terlihat sebagai pita tambahan). Elektroforesis merupakan metode pemisahan molekul berdasarkan muatan listriknya dalam suatu medan listrik. Molekul yang bermuatan negatif seperti DNA akan bermigrasi menuju kutub positif (anoda), sedangkan molekul bermuatan positif akan bergerak ke arah kutub negatif (katoda). Jenis elektroforesis yang umum digunakan antara lain elektroforesis kapiler, elektroforesis kertas, dan elektroforesis gel (Gea, 2024).

Metode elektroforesis gel agarosa banyak dimanfaatkan dalam penelitian karena memiliki keunggulan berupa prosedur yang mudah dilakukan serta mampu memberikan hasil yang akurat dalam pemisahan molekul DNA maupun protein. Elektroforesis ini terbuat dari bahan seperti jelly yang berfungsi memisahkan dan menganalisis ukuran serta struktur dari DNA, RNA, dan protein. Perangkat utama dalam alat ini meliputi tangki elektroforesis, sumber arus listrik, cetakan gel (*tray*), dan sisir pembentuk sumur sampel. Pewarna seperti loading dye ditambahkan pada gel agarosa untuk mempermudah analisis DNA (Gea, 2024).

2.1.6 Sequencing

2.1.6.1 Nanopore Sequencing Adaptive Sampling

Teknologi *nanopore* memanfaatkan tubang berskala nano yang tertanam dalam struktur membran tipis untuk mendeteksi perubahan potensial saat molekul biologis bermuatan yang ukurannya lebih kecil dari *nanopore*, melewati tubang tersebut (Lin *et al.*, 2021). Dengan mekanisme ini, teknologi *nanopore* memiliki potensi untuk mendeteksi dan menganalisis berbagai molekul, seperti asam amino, molekul tunggal, DNA, RNA, dan lainnya (Rodríguez-Larrea, 2021).

Asam nukleat merupakan materi genetik esensial bagi sebagian besar organisme hidup, dan pengurutan asam nukleat yang akurat menjadi hal krusial dalam penelitian biomedis. Hal ini berkontribusi pada diagnosis penyakit manusia serta pengembangan pengobatan yang terpersonalisasi (Zhu *et al.*, 2015). Sejak abad terakhir, teknologi pengurutan gen telah mengalami perkembangan pesat, dan saat ini teknologi *nanopore* menjadi salah satu metode utama dalam bidang pengurutan gen.

Teknologi pengurutan gen generasi keempat merupakan gabungan antara teknologi rekayasa genetik dan teknologi berbantuan komputer. Salah satu teknologi inovatif dalam generasi ini adalah *Oxford Nanopore Technologies* (ONT), yang menggunakan teknologi *nanopore* untuk menentukan urutan basa melalui distorsi arus listrik saat DNA melewati *nanopore* (Mikheyev & Tin, 2014). *Oxford Nanopore Technologies* (ONT)

telah berkembang menjadi salah satu teknologi pengurutan paling canggih, dengan keunggulan mampu melakukan pengurutan genom secara menyeluruh dan diagnosis penyakit secara cepat serta efisiensi dari segi biaya. Panjang baca DNA yang dihasilkan oleh *Oxford Nanopore Technologies* (ONT) terus meningkat, dengan panjang baca maksimum yang dilaporkan mencapai 1 juta pasangan basa (Miga *et al.*, 2020).

Teknologi berbasis *nanopore* berasal dari pengembangan prinsip Coulter dan saluran ion (Lin *et al.*, 2021). Proses teknologi *nanopore* dilakukan dengan memasang katoda dan anoda pada larutan di sisi depan dan belakang membran. Biomolekul bermuatan negatif, seperti DNA, ditempatkan di sisi depan dan molekul-molekul tersebut dapat melewati pori-pori membran di bawah pengaruh gaya elektroforesis akibat adanya tegangan yang diterapkan. Ketika berbagai molekul yang bergerak melalui pori-pori, perubahan arus listrik dapat ditangkap dan data tersebut digunakan untuk analisis lebih lanjut menggunakan perangkat lunak berbasis komputer.

Oxford Nanopore Technologies (ONT) merupakan teknologi pengurutan molekul tunggal berbasis *nanopore*. Prototipe pertamanya, MinION, diperkenalkan pada tahun 2014 (Bentley, 2014). Platform yang lebih canggih, PromethION, diperkenalkan pada tahun 2015 dengan peningkatan throughput. PromethION memiliki dua varian, yaitu PromethION 24 dan PromethION 48, yang masing-masing dilengkapi dengan 24 dan 48 tangki aliran. Dengan jumlah tangki aliran yang jauh lebih banyak dibandingkan dengan MinION. Sistem PromethION mampu menghasilkan data hingga 7,6 Tb, sedangkan MinION hanya dapat menghasilkan sekitar 50 Gb dalam operasi selama 72 jam (Lin *et al.*, 2021).

Pengurutan *nanopore* terdiri dari tiga bentuk utama, yaitu 1D, 2D, dan 1D². Pada metode 1D, hanya satu untai DNA yang diurutkan menggunakan *nanopore*. Metode 2D, yang pertama kali diperkenalkan oleh *Oxford Nanopore Technologies* (ONT), menggunakan struktur jepit rambut di salah satu ujung DNA beruntai ganda untuk menghubungkan kedua

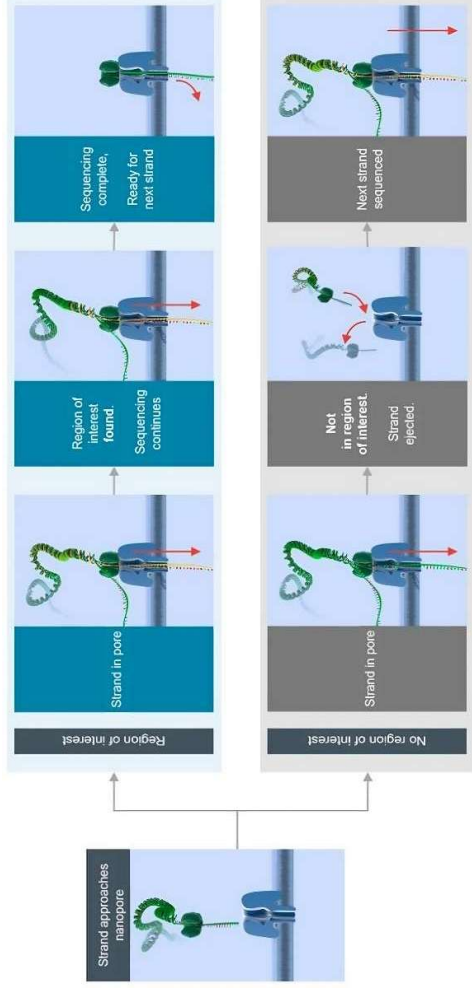


untai. Setelah pengurutan satu untai selesai, proses langsung berlanjut ke untai lainnya. Pendekatan ini setara dengan melakukan pengurutan dua kali, yang memungkinkan koreksi kesalahan pada basa. Sementara itu, metode 1D² serupa dengan 2D, tetapi tidak memerlukan jepit rambut untuk menghubungkan dua untai DNA secara fisik (Lin *et al.*, 2021).

Oxford Nanopore Technologies (ONT) memungkinkan penguraian wilayah genom secara *real-time* selama proses sekuensing berlangsung. Kemampuan ini memungkinkan pengambilan keputusan secara langsung untuk menentukan apakah suatu untai DNA memiliki relevansi tertentu atau tidak. Proses ini dikenal sebagai *adaptive sampling*, yang dapat melakukan seleksi bacaan secara *real-time* ketika perangkat lunak sekuensing (MinKNOW) diberi file *a.bed* berisi wilayah yang sesuai (*regions of interest/ROI*) dalam format FASTA (Oxford Nanopore Technologies, 2024).

Adaptive sampling merupakan metode yang cepat dan fleksibel untuk memperbanyak wilayah target yang menjadi fokus penelitian. Pemilihan target dilakukan selama proses sekuensing berlangsung. Proses ini dimulai dengan menyiapkan dan memuat pustaka, kemudian memilih opsi "*adaptive sampling*" di MinKNOW. Pengguna perlu mengunggah file FASTA yaitu file *a.bed* yang mendetailkan wilayah yang menjadi fokus (*region of interest/ROI*) (Oxford Nanopore Technologies, 2024).

Ketika sekuensing dimulai, karena sifat *real-time* dari *nanopore sequencing*, MinKNOW akan mengidentifikasi apakah untai DNA yang sedang disekuensing berada dalam ROI. Jika pembacaan tidak sesuai dengan ROI, MinKNOW akan mengeluarkan untai dari pori sehingga pori dapat menerima untai baru. Proses ini terus berulang, menolak untai di luar target, hingga untai dari ROI terdeteksi dan sekuensing dilanjutkan (Oxford Nanopore Technologies, 2024).



Gambar 2.7 Overview Pengambilan Sampel Adaptif

Sumber: Oxford Nanopore Technologies, 2024

Adaptive sampling dapat dijalankan dalam dua mode, yaitu *enrichment* dan *depletion*. Pada mode *enrichment*, pengguna menggunakan *Regions of Interest (ROI)* ke MinkNOW, yang kemudian menolak untai DNA yang berada di luar wilayah tersebut. Sebaliknya, pada mode *depletion*, pengguna menggunakan target yang tidak diinginkan ke MinkNOW, yang kemudian menolak untai DNA yang berada di dalam wilayah tersebut (Oxford Nanopore Technologies, 2024).

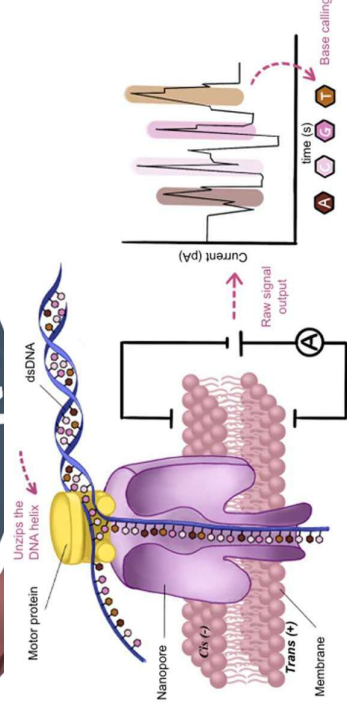
Proses pengurutan menggunakan teknologi *nanopore* dilakukan dalam sel aliran, di mana dua kompartemen yang berisi larutan ionik dipisahkan oleh membran yang dilengkapi dengan *nanopore*, berjumlah 2048 pada perangkat MinION atau 12.000 pada perangkat PromethION (Lin *et al.*, 2021). *Nanopore sequencing* dilakukan dengan merendam membran biologis yang mengandung *nanopore* ke dalam larutan ionik, kemudian menerapkan tegangan ke kedua sisi lapisan fosfolipid ganda untuk menghasilkan arus ionik melalui saluran *nanopore* (Branton *et al.*, 2008). Selanjutnya, molekul untai tunggal yang tidak terlipat digerakkan melalui pori-pori nano untuk dianalisis (**Gambar 2.8**). Proses pengurutan gen menggunakan *nanopore* dapat dibagi menjadi tiga tahap utama: *library preparation*, *sequencing process*, dan *basecaller* (Lin *et al.*, 2021).

a. *Library Preparation*

Library preparation merupakan langkah yang sangat penting dalam proses pengurutan menggunakan *nanopore*. Fragmen DNA perlu diperbaiki, baik yang telah melalui proses *shearing* maupun yang belum. Dalam tahap perbaikan ini, konektor yang digunakan merupakan kompleks DNA-protein yang mengandung polimerase atau helikase (Lin *et al.*, 2021).

b. *Sequencing Process*

Proses sekuensing **Gambar 2.8** menggambarkan proses skematik pengurutan DNA. Untai DNA yang akan diurutkan dicampur dengan salinan enzim prosesif. Ketika kompleks DNA-protein mendekati *nanopore*, enzim berikatan dengan ujung awal beruntai tunggal pada templat DNA beruntai ganda, membuka pasangan untai ganda, dan menyulap untai tunggal melalui *nanopore*. Molekul tunggal dengan spesifisitas tinggi akan menyebabkan gangguan arus Listrik saat untai panjang DNA yang telah dibuka melewati *nanopore* satu basa pada satu waktu. Sinyal arus yang dihasilkan ini kemudian dapat digunakan untuk mengidentifikasi jenis basa dalam urutan DNA tersebut (Lin *et al.*, 2021)



Gambar 2.8 Proses Nanopore Sequencing

Sumber: Chen & Xu, 2023

c. *Basecaller*

Dalam proses pembacaan basa, saat DNA melewati *nanopore* menghasilkan sinyal listrik yang kemudian diterjemahkan menjadi urutan basa nukleotida menggunakan algoritma. Namun, proses ini sering menghadapi tantangan berupa sinyal yang acak, karena sinyal tersebut dihasilkan oleh lebih dari satu molekul dalam *nanopore*, sehingga menyulitkan *basecaller* dalam menginterpretasikan data secara akurat (Lin *et al.*, 2021).



2.2 Hasil Penelitian Terdahulu

Tabel 2.3 Hasil Penelitian Terdahulu

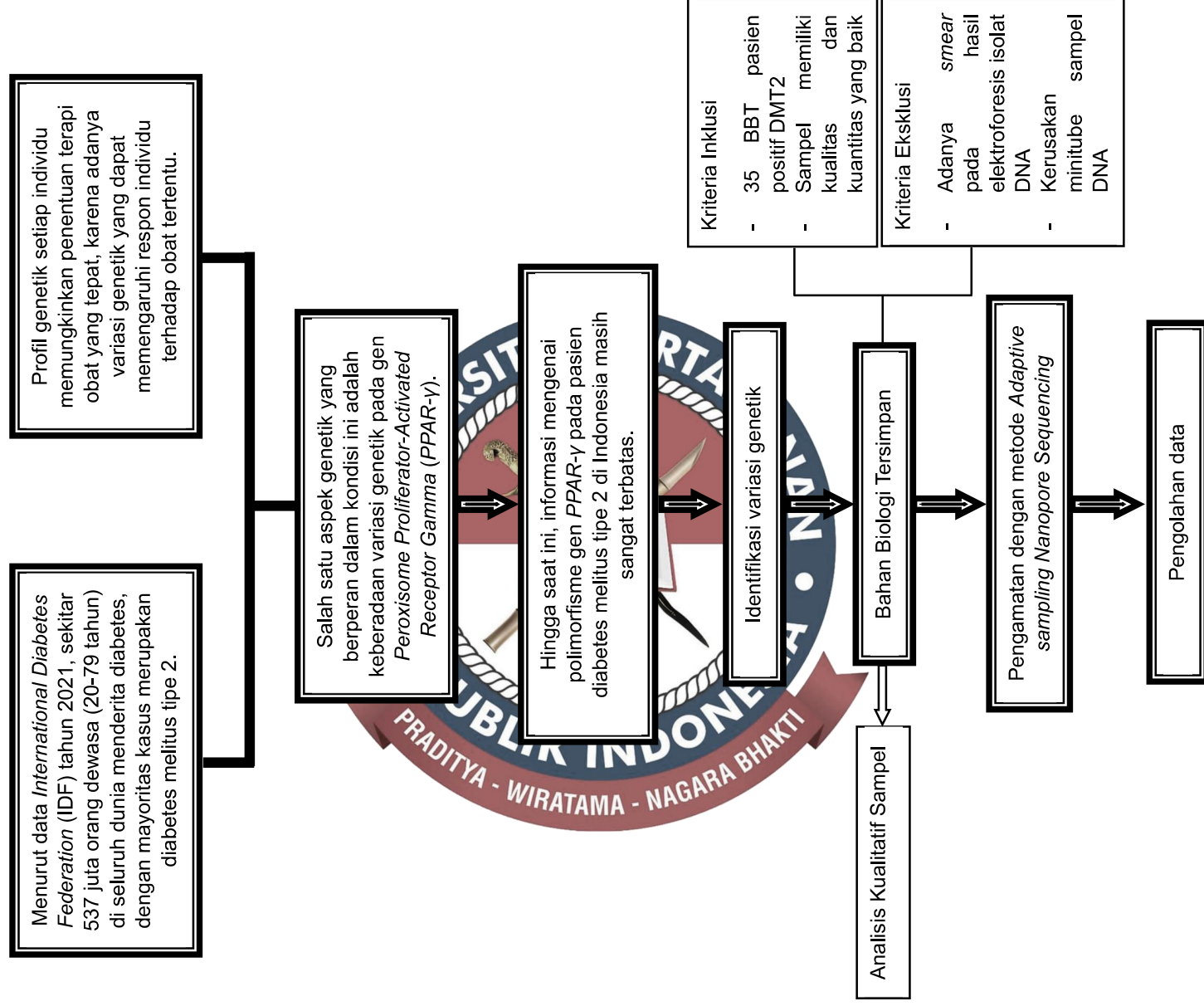
No	Judul Penelitian	Metode Penelitian	Hasil Penelitian	Kekurangan Penelitian	Sumber
1	<i>Association between PPAR Gamma rs1801282 polymorphism with diabetic nephropathy and type-2 diabetes melitus susceptibility in south India and a meta-analysis</i>	Jumlah subjek: 424 subjek (DN = 128; DMT2 = 148; dan kontrol = 148) Populasi: India Selatan Metode: ARMS-PCR dan Sanger Sequencing.	Genotipe polimorfisme rs1801282 menunjukkan hubungan signifikan ($p < 0,05$) dengan DN dan DMT2 dibandingkan dengan kontrol pada populasi Asia dan Kaukasia	- Tidak dapat mendeteksi variasi di luar target primer - Setiap analisis polimorfisme memerlukan desain primer khusus	(Regine <i>et al.</i> , 2020)
2	<i>A possible association of Pro12Ala polymorphism in peroxisome proliferator – activated receptor γ2 gene with obesity in native Javanese in Indonesia</i>	Jumlah subjek: 540 subjek (337 pasien diabetes tipe 2 dan 203 subjek dengan toleransi glukosa normal). Populasi: Etnis Jawa asli di Indonesia. Metode: PCR-RFLP	Tidak ditemukan hubungan signifikan antara polimorfisme Pro12Ala dengan DMT2 pada populasi Jawa	- Tidak dapat mendeteksi variasi genetik lain yang mungkin relevan - Tidak dapat mendeteksi keberagaman genetik yang luas	(Danawati <i>et al.</i> , 2005)

No	Judul Penelitian	Metode Penelitian	Hasil Penelitian	Kesimpulan Penelitian	Sumber
3	<i>Association between Pro12Ala polymorphism of the PPAR-γ2 gene and type 2 diabetes mellitus in Iranian patients</i>	Jumlah subjek: 200 subjek (100 pasien diabetes tipe 2 dan 100 subjek sehat sebagai kontrol). Populasi: Iranian Metode: PCR-RFLP	Frekuensi genotipe Pro/Ala pada subjek diabetik memiliki hubungan signifikan lebih tinggi dibanding subjek non-diabetik ($P < 0.001$).	- Tidak dapat mendeteksi variasi genetik lain yang mungkin relevan - Tidak dapat mendeteksi keberagaman genetik yang luas	(Mirmohammad-Sadeghi <i>et al.</i> , 2013)
4	<i>Effect of the peroxisome proliferator-activated receptor-γ C161T polymorphism on lipid profile in Brazilian patients with Type 2 diabetes mellitus</i>	Jumlah subjek: 207 subjek (57 laki-laki dan 150 perempuan) Populasi: Brazil Metode: PCR-RFLP	Polimorfisme C161T pada gen <i>PPAR-γ</i> tidak terkait dengan variabel yang terkait dengan DM2 atau resistensi insulin pada populasi Brasil tetapi terkait dengan penurunan trigliserida serum dan AIP yang diamati pada wanita dengan alel 161T dari	- Tidak dapat mendeteksi variasi genetik lain yang mungkin relevan - Tidak dapat mendeteksi keberagaman genetik yang luas	(Tavares <i>et al.</i> , 2005)

No	Judul Penelitian	Metode Penelitian	Hasil Penelitian	Kekurangan Penelitian	Sumber
			polimorfisme C161T gen PPAR.		
5	<i>PPARgamma Promoter Polymorphisms and Acute Coronary Syndrome</i>	Jumlah subjek: 202 subjek (143 laki-laki dan 59 perempuan) Populasi: Italian Metode: RFLP	Peran protektif polimorfisme 93695C > T pada promotor PPARg mempengaruhi kerentanan terhadap penyakit aterosklerotik.	- Tidak dapat mendeteksi variasi genetik lain yang mungkin relevan - Tidak dapat mendeteksi keberagaman genetik yang luas	(Evangelisti <i>et al.</i> , 2009)
6	<i>Association of the rs3856806 Polymorphism in the PPARG Gene with Type 2 Diabetes Mellitus: A Meta-Analysis of 11,811 Individuals</i>	Jumlah subjek: 11,811 individu Metode: Meta-Analisis	Pembawa alel T dari SNV rs3856806 secara signifikan menurunkan risiko tertular DMT2.	Identifikasi tidak dilakukan secara langsung pada subjek dan populasi terkait tidak dijelaskan.	(Tiongco <i>et al.</i> , 2023)
7	<i>rs10865710 polymorphism in PPARG promoter is associated with the severity of</i>	Jumlah subjek: 635 subjek (DMT2, PJK, DMT2/PJK)	Frekuensi alel T secara signifikan lebih tinggi pada kelompok DMT2/PJK	- Tidak dapat mendeteksi variasi genetik lain yang	(Song, Raheel, <i>et al.</i> , 2022)

No	Judul Penelitian	Metode Penelitian	Hasil Penelitian	Kekurangan Penelitian	Sumber
	<i>type 2 diabetes mellitus and coronary artery disease in a Chinese population</i>	(DMT2 komplikasi dengan PJK) dan kontrol) Populasi: China Metode: PCR-RFLP	daripada pada kelompok DMT2 tanpa disertai penyakit jantung koroner (PJK).	mungkin relevan - Tidak dapat mendeteksi keberagaman genetik yang luas	
8	<i>G Allele of the rs1801282 Polymorphism in PPARG Gene Confers an Increased Risk of Obesity and Hypercholesterolemia, While T Allele of the rs3856806 Polymorphism Displays a Protective Role Against Dyslipidemia: A Systematic Review and Meta-Analysis</i>	Jumlah subjek: 33 studi (18,353 subjek) Metode: Meta-Analisis	Alel T dari polimorfisme rs3856806 menunjukkan peran protektif terhadap dislipidemia.	Identifikasi tidak dilakukan secara langsung pada subjek dan populasi terkait tidak dijelaskan.	(Li <i>et al.</i> , 2022)

2.3 Kerangka Berpikir



Gambar 2.9 Kerangka Berpikir

Sumber: diolah oleh peneliti