SKRIPSI

DETEKSI POLIMORFISME GEN EDN1 rs5370 PADA PASIEN DIABETES MELITUS DENGAN KOMPLIKASI KARDIOVASKULER MENGGUNAKAN TEKNIK *POLYMERASE CHAIN REACTION* (PCR) *SEQUENCING*

Diajukan sebagai syarat dalam meraih Sarjana Terapan Kesehatan (S.Tr.Kes)
pada Program Studi Diploma Empat (VI) Teknologi Laboratorium Medis
Fakultas Teknologi Kesehatan Universitas Megarezky Makassar

SHOFI SALSABILA NAWAWI

B1D121109

PROGRAM STUDI D-IV TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS

FAKULTAS TEKNOLOGI KESEHATAN

UNIVERSITAS MEGAREZKY

MAKASSAR

2025

HALAMAN JUDUL

SKRIPSI

DETEKSI POLIMORFISME GEN EDN1 rs5370 PADA PASIEN DIABETES MELITUS DENGAN KOMPLIKASI KARDIOVASKULER MENGGUNAKAN TEKNIK *POLYMERASE CHAIN REACTION* (PCR) *SEQUENCING*

DETECTION OF EDN1 GENE POLYMORPHISM rs5370 IN PATIENTS WITH DIABETES MELLITUS AND CARDIOVASCULAR COMPLICATIONS USING POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR) SEQUENCING TECHNIQUE

SHOFI SALSABILA NAWAWI

B1D121109

Dibimbing Oleh

Pembimbing I

Arlitha Dekayana, S.Si.M.Kes

Pembimbing II

Dr.H.Syamsuni Carsel, HR, S.Ag.,M.Pd

Penguji

Desyani Ariza, S.Si.,M.Kes

PROGRAM STUDI DIV TEKNOLOGI LABORATORIUM KESEHATAN

MEDIS FAKULTAS TEKNOLOGI KESEHATAN

UNIVERSITAS MEGAREZKY

MAKASSAR

2025

LEMBAR PENGESAHAN
SKRIPSI

DETEKSI POLIMORFISME GEN EDN1 rs5370 PADA PASIEN DIABETES MELITUS DENGAN KOMPLIKASI KARDIOVASKULER MENGGUNAKAN TEKNIK *POLYMERASE CHAIN REACTION* (PCR) *SEQUENCING*

Disusun dan diajukan oleh
SHOFI SALSABILA NAWAWI
Nomor Induk Mahasiswa B1D121109
Telah dipertahankan di depan Tim Penguji Skripsi
Pada tanggal 2 September 2025
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui,

Tim Penguji	**Tanda Tangan**
1. Desyani Ariza, S.Si., M.Kes	( )
2. Arlitha Dekayana, S.Si., M.Kes	( )
3. Dr. H. Syamsuni Carsel, HR, S.Ag.,M.Pd	( )

Mengetahui

Dekan **Fakultas Teknologi Kesehatan**	**Ketua Program Studi** **DIV Teknologi Laboratorium Medis**
Prof. Dr. Dra. apt. Hj. Asnah Marzuki, M. Si	Dr. Nirmawati Angria, S.Si., M. Kes
NUPTK. 1350727628230013	NUPTK. 6950765666230332

SURAT KETERANGAN UJI TURNITIN

LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN MASYARAKAT (LPPM)
UNIVERSITAS MEGAREZKY
SK. Menristekdikti RI. No.1194/KPT/I/2018 Terakreditasi BAN PT
Kampus II : Jalan Antang Raya No. 43 Telp. 0411 - 492 401 - 496401 Fax. 496614 Website : http://universitasmegarezky.ac.id E-mail : info@universitasmegarezky.ac.id

KETERANGAN LOLOS UJI TURNITIN
No. 1551/T/07.091056/VIII /2025

Yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Syamsyuriyana Sabar, S.Kep., Ns., M.Kep

NIDN : 0915118602

Jabatan : Ketua LPPM

Menyatakan bahwa :

Nama	:	Shofi Salsabila Nawawi
Nim	:	B1D121109
Prodi	:	DIV Teknologi Laboratorium Medis
Judul Skripsi/KTI	:	Deteksi Polimorfisme Gen EDN1 rs5370 Pada Pasien Diabetes Melitus Dengan Komplikasi Kardiovaskuler Menggunakan Teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) *Sequencing*

Telah melalui uji *similarity* dengan software *Turnitin* dan dinyatakan lolos dengan **persentase 28%** sesuai bukti terlampir.

Demikian Surat Keterangan ini di buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Makassar, 28 agustus 2025
Ketua,

Ns. Syamsyuriyana Sabar, M.Kep
NIDN: 09 151186 02

HALAMAN PERSEMBAHAN

Dengan segala kerendahan hati dan memanjatkan puji serta penuh rasa syukur kepada Allah SWT. saya mempersembahkan skripsi ini kepada sosok-sosok istimewa yang selalu menjadi sumber semangat, inspirasi, dan motivasi dalam perjalanan hidup dan studi saya. Tanpa mereka, langkah ini tak akan pernah sampai pada titik ini. Penulis persembahkan untuk :

1. Kedua orang tua tercinta, bapak Muh. Nawawi A. dan ibu Murniaty. Skripsi ini saya persembahkan dengan penuh cinta dan bakti kepada orang tua saya tercinta, yang namanya akan selalu saya sebut dalam doa dan perjuangan hidup. Terima kasih atas kasih sayang yang tulus, doa yang tidak pernah putus, serta kerja keras mengorbankan waktu dan tenaga yang tiada henti demi masa depan saya. Insya Allah keberhasilan ini menjadi kado kecil atas segala pengorbanan dan cinta kalian yang luar biasa.
2. Kepada kakak Nurul Hidayah Nawawi, A.Md.Far dan adikku Jihan Balqis Nawawi yang selalu memberikan semangat, tawa, dan dukungan dalam setiap langkah hidupku. Terima kasih telah menjadi bagian dari perjalanan ini dan menjadi tempat pulang yang penuh kehangatan.
3. Kepada Dosen Pembimbing Ibu Arlitha Dekayana, S.Si.M.Kes dan Bapak Dr.H.Syamsuni Carsel, HR, S.Ag.,M.Pd penulis ucapan terima kasih yang tulus saya sampaikan kepada Bapak dan Ibu atas segala bimbingan, arahan, dan kesabaran selama proses penyusunan skripsi ini. Ilmu, nasihat, dan motivasi dari beliau telah banyak membantu saya dalam menyelesaikan tugas akhir ini dengan lebih baik.

4. Kepada seluruh Dosen dan Staf akademik di Fakultas Kesehatan khususnya Prodi DIV TLM Universitas Megarezky, yang telah memberikan ilmu, dukungan, dan pelayanan terbaik selama masa studi saya. Terima kasih atas dedikasi dan kontribusinya dalam mencerdaskan dan membentuk karakter saya selama ini.
5. Untuk teman-teman satu angkatan, satu kelas terutama kelas 2021 C kelompok belajar, dan semua sahabat seperjuangan yang telah bersama melewati pahit-manisnya masa perkuliahan. Terima kasih atas semua kebersamaan, tawa, tangis, dan saling menguatkan dalam setiap langkah. Kalian adalah bagian penting dari cerita ini, dan semoga kita semua berhasil mencapai masa depan dengan bangga.
6. Kepada sahabat - sahabat saya Ratu Dahlia Mariri dan Nur Islamia Safruddin yang selalu membersamai selama masa perkuliahan memberi warna dalam hidup saya, yang tak pernah lelah mendengar keluh kesah dan memberikan semangat ketika saya mulai lelah. Terima kasih atas kehadiran kalian yang begitu berarti.
7. Untuk diri saya sendiri terima kasih telah bertahan, berjuang, dan tidak menyerah meski sering merasa lelah dan hampir putus asa. Setiap tetes keringat, air mata, dan malam-malam panjang yang telah dilewati adalah bukti bahwa saya mampu menghadapi segala tantangan. Perjalanan ini bukan akhir, tetapi langkah awal menuju perjalanan yang lebih panjang kedepannya.

MOTTO

“ Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan ”

(QS. Al-Insyirah : 6)

“ Doa dan restu orangtua bahan bakar terbaik dalam setiap perjuangan ”

“Tidak mustahil bagi orang biasa untuk memutuskan menjadi luar biasa”

CURRICULUM VITAE



SHOFI SALSABILA NAWAWI

B1D121109

Program Studi	: DIV Teknologi Laboratorium Medis
NIM	: B1D121109
TTL	: Makassar, 05 November 2002
Suku/ Bangsa	: Indonesia
Jenis Kelamin	: Perempuan
Agama	: Islam
Alamat	: JL. Rahmatullah Raya Perum Protech No. 6
Orang Tua	
a. Bapak	: Muh. Nawawi Alimuddin
b. Ibu	: Murniaty Soetar Arland
Riwayat Pendidikan	
a. SD	: SD Negeri Mangkura 1 Makassar
b. SMP	: SMP Negeri 05 Makassar
c. SMA	: SMK Farmasi Yamasi Makassar
Prinsip Hidup	: Jadilah tinggi tanpa merendahkan

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah Subhanahu Wa Ta'ala karena atas rahmat dan karunia-Nya, penulis dapat menyelesaikan Skripsi ini yang berjudul **"Deteksi Polimorfisme Gen EDN1 rs5370 pada Penderita Diabeters Melitus Komplikasi Kardiovaskuler Menggunakan Teknik *Polymerase Chain Reaction (*PCR) *Sequencing*"**

Penyusunan karya tulis ini merupakan salah satu syarat dalam menyelesaikan Program Sarjana DIV Teknologi Laboratorium Medis Fakultas Kesehatan, Universitas Megarezky Makassar. Penulis menyadari bahwa tanpa bimbingan, bantuan, dan dukungan dari berbagai pihak, karya tulis ini tidak akan dapat terselesaikan dengan baik.

Dengan penuh rasa hormat dan cinta, penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang tak terhingga kepada kedua orang tua tercinta **Ayah Muh. Nawawi Alimuddin dan Ibu Murniaty Sutar Arland**, yang senantiasa mendoakan, mendampingi, serta memberikan semangat, kasih sayang, dan dukungan moril maupun materil tanpa henti. Tanpa keikhlasan dan doa dari Ayah dan Ibu, penyusunan Skripsi ini tidak akan pernah terwujud.

Ucapan terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya juga penulis sampaikan kepada:

1. **Bapak Dr. H. Alimuddin, SH., MH., M.Kn** sebagai Pembina Yayasan Pendidikan Islam Mega Rezky Makassar, atas arahan dan pembinaan yang senantiasa menjadi fondasi dalam pengembangan institusi dan mahasiswa.

2. **Ibu Alm. Hj. Suryani, SH., MH** sebagai Pendiri Yayasan Pendidikan Islam Mega Rezky Makassar, atas dedikasi dan kontribusi luar biasa dalam mendirikan lembaga pendidikan yang menjadi wadah pengembangan ilmu dan karakter.
3. **Bapak Moch. Noer Alim Qolby, S.H., LLM** sebagai Ketua Yayasan Pendidikan Islam Mega Rezky Makassar, atas dukungan dan kebijakan strategis yang memfasilitasi proses pendidikan dan penelitian secara berkelanjutan.
4. **Bapak Prof. Dr. Anwar Ramli, SE., M.Si** sebagai Rektor Universitas Megarezky, atas motivasi dan arahannya dalam membangun budaya akademik yang unggul dan berdaya saing.
5. Ibu **Prof. Dr. dra. Apt. Hj. Asnah Marzuki, M.Si**, sebagai Dekan Fakultas Teknologi Kesehatan, atas kesempatan dan dukungan yang diberikan selama masa studi.
6. Ibu **Dr. Nirmawati Angria, S.Si., M.Kes** Ketua Program Studi DIV Teknologi Laboratorium Medis, atas bimbingan akademik yang berkelanjutan dan inspiratif.
7. **Dosen Pembimbing I Ibu Arlitha Dekayana, S.Si.M.Kes** dan **Pembimbing II Bapak Dr.H.Syamsuni Carsel, HR, S.Ag.,M.Pd**, yang telah memberikan arahan, saran, dan evaluasi dalam penyusunan karya tulis ini dengan penuh kesabaran dan keikhlasan.
8. Ibu **H. Amirah, S.Si., M.Kes** sebagai Pembimbing Akademik (PA), atas pendampingan dan bimbingan akademik selama masa studi penulis

9. **Seluruh Dosen dan Staf Akademik Universitas Megarezky**, atas ilmu, perhatian, dan pelayanan yang diberikan selama proses studi.
10. **Laboratorium *Hasanuddin University Medical – Research Center* (HUM-RC) Makassar** atas izin, dukungan, dan kerja samanya selama pelaksanaan penelitian.
11. Teman-teman seperjuangan dan semua pihak yang turut membantu secara langsung maupun tidak langsung dalam penyusunan karya ilmiah ini.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan karya ilmiah ini masih terdapat banyak kekurangan. Oleh karena itu, kritik dan saran yang bersifat membangun sangat penulis harapkan demi kesempurnaan karya ini di masa mendatang.

Akhir kata, semoga karya ilmiah ini dapat memberikan manfaat bagi pembaca, serta menjadi kontribusi yang berarti dalam pengembangan ilmu pengetahuan.

Makassar, 02 September 2025

Shofi Salsabila Nawawi
B1D121109

ABSTRAK

Shofi Salsabila Nawawi (B1D121109) Deteksi Polimorfisme Gen EDN1 rs5370 pada Penderita Diabetes Melitus Komplikasi Kardiovaskuler Menggunakan Teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) *Sequencing* Dibimbing Oleh Arlitha Dekayana dan Syamsuni Carsel

Salah satu penyakit metabolik kronis yang sering disertai komplikasi Kardiovaskuler ialah Diabetes Melitus, yang menjadi penyebab utama morbiditas dan mortalitas pada penderita. Endothelin-1 (EDN1) adalah vasokonstriktor kuat yang dikodekan oleh gen EDN1, dan variasi genetik pada posisi rs5370 diketahui berhubungan dengan disfungsi endotel serta peningkatan risiko kardiovaskuler. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi adanya polimorfisme gen EDN1 rs5370 pada penderita DM dengan komplikasi kardiovaskuler menggunakan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) *Sequencing*. Jenis penelitian ini termasuk penelitian kuantitatif dengan desain deskriptif laboratorium menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) *Sequencing* dengan 10 sampel serum penderita diabetes Melitus komplikasi Kardiovaskuler. Adapun hasil yang didapat dalam penelitian ini ialah terdapat pita band 262 bp dan pada hasil *Sequencing* didapatkan satu sampel terjadi mutasi dan terjadi perubahan basa G menjadi T pada posisi nukleotida ke-5665, terdapat dua sampel yang terjadi mutasi namun tidak disertai dengan perubahan asam amino, dan tujuh sampel lainnya tidak tejadi perubahan mutasi (normal). Penelitian ini berkontribusi dalam menjelaskan peran faktor genetik terhadap kerentanan komplikasi, serta hasil yang diperoleh dapat dimanfaatkan untuk mengidentifikasi pasien berisiko tinggi dan sebagai dasar pengembangan biomarker genetik.

Kata kunci: Diabetes Melitus, komplikasi Kardiovaskuler, Polimorfisme Gen, EDN1 rs5370, PCR *Sequencing*.

ABSTRACT

Shofi Salsabila Nawawi (B1D121109) Detection of EDN1 Gene Polymorphism rs5370 in Patient with Diabetes Mellitus and Cardiovascular Complications Using the Polymerase Chain Reaction (PCR) Sequencing Technique (Supervised by Arlitha Dekayana and Syamsuni Carsel)

One of the chronic metabolic diseases often accompanied by cardiovascular complications is Diabetes Mellitus, which is a major cause of mordibity and mortality in patients. Endothelin-1 (EDN1) is a potent vasocontrictor encoded by the EDN1 gene, and genetic variation at the rs5370 position is known to be associated with endothelial dysfunction and increased cardiovascular risk. This study aims to detect the presence of EDN1 gene polymorphism rs5370 in DM patients with cardiovascular complications using the Polymerase Chajn Reaction (PCR) Sequencing technique. This type of research is quantitative research with a descriptive laboratory design using the Polymerase Chain Reaction (PCR) sequencing method with 10 serum samples from Diabetes mellitus patients with Cardiovascular complications. The result obtained in this study showed a 262 bp band and the Sequencing result found one sample had mutation and a base change from G to T at nucleotide position -5665, there were two samples with mutations but not accompanied by amino acid changes, and seven other samples had no mutation (normal). This research contributes to explaining the role of genetic factors in complication susceptibility, and the result obtained can be used to identify high-risk patients and as a basis for developing genetic biomarkers.

Keywords: *Diabetes Mellitus, Cardiovascular Complications, Gene Polymorphism, EDN1 rs5370, PCR Sequencing.*



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL ..... **ii**
HALAMAN PENGESAHAN ..... **iii**
SURAT KETERANGAN TURNITIN ..... **iv**
HALAMAN PERSEMBAHAN ..... **v**
MOTTO ..... **vii**
CURRICULUM VITAE ..... **viii**
KATA PENGANTAR ..... **ix**
ABSTRAK ..... **xii**
DAFTAR ISI ..... **xiv**
DAFTAR GAMBAR ..... **xvi**
DAFTAR BAGAN ..... **xvii**
DAFTAR TABEL ..... **xviii**
DAFTAR LAMPIRAN ..... **xix**
DAFTAR SINGKATAN ..... **xx**
BAB I PENDAHULUAN **1**
A. Latar Belakang 1
B. Rumusan Masalah 5
C. Tujuan Penelitian 5
D. Manfaat Penelitian 5
BAB II TINJUAN PUSTAKA **7**
A. Tinjuan Umum Diabetes Melitus 7
1. Etiologi 8
2. Klasifikasi 8
3. Patofisiologi 9
4. Patogenesis 13
B. Komplikasi Diabetes Melitus 14
C. Komplikasi Kardiovaskuler 15
D. Tinjuan Umum Gen EDN1 rs5370 17
1. Definisi 17

2. Polimorfisme Gen EDN1 rs5370 18
E. Pemeriksaan Molekuler 20
F. Kerangka Teori 22
G. Kerangka Konsep 23
H. Definisi Operasional 23
BAB III METODE PENELITIAN 25
A. Jenis Penelitian 25
B. Lokasi & Waktu Penelitian 25
C. Populasi & Sampel Penelitian 25
D. Teknik Pengambilan Sampel 26
E. Kriteria Subjek Penelitian 26
F. Instrumen Penelitian 26
G. Prosedur Kerja Penelitian 27
H. Interpretasi Hasil 31
I. Analisis Data 31
J. Alur Penelitian 32
K. Etika Penelitian 33
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN 34
A. Hasil Penelitian 34
1. Karakteristik Subjek Penelitian 34
2. Hasil Pemeriksaaan PCR 36
3. Hasil Pemeriksaan Sequencing 36
B. Pembahasan 43
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN 48
A. Kesimpulan 48
B. Saran 48
DAFTAR PUSTAKA 49
LAMPIRAN 55

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Faktor Resiko Utama Diabetes Melitus tipe 2 12

Gambar 2. 2 Alat *Polymerase Chain Reaction* (PCR) 20

Gambar 2.3 Hasil Elektroforesis 36

Gambar 2. 4 Hasil Sequencing Sampel 1 36

Gambar 2.5 Hasil Sequencing Sampel 2 37

Gambar 2. 6 Hasil Sequencing Sampel 3 38

Gambar 2. 7 Hasil Sequencing Sampel 4 38

Gambar 2. 8 Hasil Sequencing Sampel 5 39

Gambar 2. 9 Hasil Sequencing Sampel 6 39

Gambar 2. 10 Hasil Sequencing Sampel 7 40

Gambar 2. 11 Hasil Sequencing Sampel 8 41

Gambar 2. 12 Hasil Sequencing Sampel 9 41

Gambar 2. 13 Hasil Sequencing Sampel 10 42

DAFTAR BAGAN

Gambar 1. Kerangka Teori 22
Gambar 2. Kerangka Konsep 23
Gambar 3. Alur Penelitian 30

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Distribusi Subjek Berdasarkan Karakteristik Penelitian 35

Tabel 4.2 Hasil Analisis Gen EDN1 Rs5370 Sequencing.....43

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Dokumentasi Ekstraksi DNA 55

Lampiran 2. Dokumentasi Proses Amplifikasi..... 57

Lampiran 3. Dokumentasi Elektroforesis Dan Pembacaan Geldoc 58

Lampiran 4. Data Hasil Karakteristik Responden..... 59

Lampiran 5. Surat Izin Penelitian..... 60

Lampiran 6. Kode Etik 61

Lampiran 7. Surat Pengantar Laboratorium HUM-RC 62

Lampiran 8. Surat Keterangan Selesai Penelitian HUM-RC 63

Lampiran 9. *Plagiarisme Scan Report* 64

Lampiran 10. Pengisian Kuisioner..... 66

DAFTAR SINGKATAN

AGEs	: *Advanced Glycation End Products*
CRP	: *C-Reactive* Protein
DM	: Diabetes Melitus
DNA	: *Deoxyribo Nucleic Acid*
EDN-1	: Endotelin-1
EDNA	: Endotelin-A
EDNB	: Endotelin-B
EDTA	: *Ethylenediaminetetraacetic Acid*
EtBr	: Etidium Bromida
GDM	: Gestational Diabetes Melitus
IDF	: *International Diabetes Federation*
IL-1	: Interleukin-1
IL-6	: Interleukin-6
IL-8	: Interleukin-8
KAD	: Ketoasidosis Diabetik
PBS	: *Phosphate Buffered Saline*
PCR	: *Polymerase Chain Reaction*
RAAS	: *Renin Angiotensin Aldosteron System*
TBE	: *Tris Borate* EDTA

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Diabetes Melitus (DM) merupakan gangguan kesehatan jangka panjang yang ditandai oleh peningkatan kadar gula dalam darah. Kondisi ini disebabkan oleh ketidakmampuan pankreas menghasilkan insulin yang cukup atau oleh resistensi sel-sel tubuh terhadap insulin yang dihasilkan. Kadar gula darah yang tinggi terus-menerus pada penderita diabetes dapat mengakibatkan kerusakan pada saraf dan pembuluh darah, sehingga memicu berbagai komplikasi kesehatan yang serius (Nurhayani, 2022).

Kasus diabetes melitus merupakan masalah kesehatan global yang kompleks. Komplikasi DM meningkatkan risiko kematian, kebutaan, gagal ginjal, dan penurunan kualitas hidup. Profil lipid yang abnormal dan pembentukan agregat apolipoprotein yang merusak sel merupakan faktor tambahan yang berkontribusi pada perkembangan komplikasi vaskular pada diabetes, selain kontrol gula darah yang buruk (Ade et al., 2024).

Terdapat 2 tipe DM yaitu tipe I dan tipe II. DM Tipe I dapat terjadi karena jumlah insulin yang kurang di dalam tubuh, sedangkan DM tipe II disebabkan tubuh tidak mampu memanfaatkan insulin secara efektif. DM tipe 2 ini merupakan penyakit yang paling banyak ditemukan di masyarakat yaitu 90-95% dari seluruh kasus Diabetes Melitus (Rif'at et al., 2023).

Setiap tahunnya jumlah penderita Diabetes Melitus mengalami kenaikan dikarenakan perubahan gaya hidup masyarakat yang kurang sehat. Pada tahun

2019, kasus Diabetes Melitus di seluruh dunia mencapai 463 juta kasus dan terdapat 4,2 juta kasus kematian. Berdasarkan perkiraan IDF, kasus Diabetes Melitus akan meningkat menjadi 578 juta kasus pada tahun 2030 dan meningkat menjadi 700 juta kasus pada tahun 2045 (U. N. Azizah et al., 2022).

International Diabetes Federation (IDF) pada tahun 2022 melaporkan bahwa 537 juta orang dewasa (20-79 tahun) hidup dengan diabetes di seluruh dunia. Jumlah ini diperkirakan akan meningkat menjadi 643 juta (1 dari 9 orang dewasa). Pada tahun 2030 dan 784 juta (1 dari 8 orang dewasa) pada tahun 2045. Diabetes mellitus menyebabkan 6,7 juta kematian pada tahun 2021. Diperkirakan 44% orang dewasa yang hidup dengan diabetes (240 juta orang) tidak terdiagnosis, 541 juta orang dewasa di seluruh dunia, atau 1 dari 10, mengalami gangguan toleransi glukosa, menempatkan mereka pada risiko tinggi terkena Diabetes Tipe 2 (Simanjuntak et al., 2024).

Insiden penyakit DM khususnya pada usia ≥15 tahun tertinggi di tiga provinsi di Sulawesi, meliputi Sulawesi Tengah (3,7%), Sulawesi Utara (3,6%) dan Sulawesi Selatan (3,4%). Prevalensi tertinggi DM di Sulawesi Selatan ditemukan di 4 kabupaten/kota, meliputi Kabupaten Pinrang (2,8%), Kota Makassar (2,5%), Kabupaten Toraja Utara (2,3%) dan Kota Palopo (2,1%). Prevalensi DM tertinggi pada perempuan dibanding laki-laki, demikian juga prevalensi DM tertingi pada daerah perkotaan (urban) dibanding daerah pedesaan (rural) (Ismail, 2023).

Jenis Komplikasi diabetes dapat diklasifikasikan menjadi komplikasi Mikrovaskular dan Makrovaskular. Komplikasi Mikrovaskuler meliputi

neuropati, nefropati, dan retinopati, yang merupakan kerusakan pada saraf, ginjal, dan retina mata akibat penyakit ini. Sementara itu, komplikasi Makrovaskular mencakup penyakit Kardiovaskular seperti penyakit jantung koroner, stroke, dan penyakit arteri perifer (Rif'at et al., 2023).

Diabetes Melitus dan penyakit Kardiovaskular memiliki hubungan yang saling mempengaruhi melalui berbagai mekanisme. Diabetes Melitus baik tipe 1 maupun tipe 2 merupakan faktor risiko utama penyakit kardiovaskular. Selain faktor risiko seperti obesitas dan hipertensi, diabetes juga memicu kondisi seperti stres oksidatif dan disfungsi endotel yang mempercepat perkembangan penyakit jantung (Leon & Maddox, 2015).

Hiperglikemia pada DM mengaktifkan berbagai jalur molekuler yang merusak pembuluh darah. Peningkatan kadar glukosa intraseluler memicu pembentukan produk akhir glikasi lanjut (*advanced glycation end products*/AGEs) yang dapat mengikat protein struktural pembuluh darah dan memicu inflamasi. Selain itu, hiperglikemia juga mengaktifkan *Protein Kinase C* yang dapat menyebabkan disfungsi endotel, vasokonstriksi, dan proliferasi sel otot polos pembuluh darah. Mekanisme lain yang berperan adalah peningkatan aktivitas sistem *Renin Angiotensin Aldosteron* (RAAS) yang dapat meningkatkan tekanan darah dan mempercepat progresivitas aterosklerosis (Leon & Maddox, 2015).

Ketika keseimbangan zat penting yaitu *Nitric Oxide* (NO) dalam pembuluh darah terganggu, maka pembuluh darah akan mengalami kerusakan (disfungsi). Kerusakan ini menyebabkan pembuluh darah menjadi lebih kaku,

mudah mengumpal, dan memicu peradangan. Proses peradangan ini diperparah oleh peningkatan zat-zat peradangan seperti *Interleukin-1* (IL-1), *Interleukin-6* (IL-6), *Tumor Necrosis Factor-alpha* (TNF-α), dan *C-Reactive Protein* (CRP). Peningkatan zat-zat peradangan ini kemudian memicu pembentukan protein perekat pada dinding pembuluh darah, sehingga memperburuk kerusakan pada pembuluh darah (Christanti et al., 2023).

Salah satu penyebab utama kerusakan pembuluh darah (disfungsi endotel) adalah peningkatan zat *Endothelin-1* (ET-1). Zat ini menyebabkan pembuluh darah menyempit dan memicu peradangan. *Endothelin-1* bekerja melalui reseptor *endothelin A* (ETA) dan *endothelin B* (ETB) di pembuluh darah. Kerusakan pembuluh darah yang disebabkan oleh *Endothelin-1* terjadi karena penurunan zat yang membuat pembuluh darah melebar, peningkatan zat yang membuat darah mudah menggumpal, pembentukan zat yang merusak sel, dan peningkatan peradangan pada sel pembuluh darah (Dubovyk et al., 2018).

Polimorfisme Gen EDN1 rs5370 adalah variasi genetik yang terletak pada gen yang mengkode endothelin-1 (ET-1), sebuah peptida yang berperan dalam vasokonstriksi (penyempitan pembuluh darah) dan regulasi tekanan darah. Endothelin-1 berperan penting dalam fungsi pembuluh darah dan pengaturan keseimbangan vaskular. Variasi pada Gen EDN1 khususnya rs5370, dapat mempengaruhi kadar endothelin-1 dalam tubuh dan mempengaruhi risiko komplikasi kardiovaskuler, terutama pada penderita Diabetes Melitus (DM) (Hampe et al., 2019).

Berdasarkan hasil fenomena di atas maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian dengan judul "Deteksi Polimorfisme Gen EDN1 rs5370 pada Pasien Diabetes Melitus dengan Komplikasi Kardiovaskuler di RS Stella Maris Makassar".

B. Rumusan Masalah

Bagaimanakah gambaran gen EDN1 rs5370 pada pasien Diabetes Melitus dengan Komplikasi Kardiovaskuler menggunakan teknik *Polymerase Chain Reacion* (PCR)?

C. Tujuan Penelitian

Untuk mendeteksi polimorfisme gen EDN1 rs5370 pada pasien Diabetes Melitus dengan komplikasi Kardiovaskuler menggunakan teknik *Polymerase Chain Reacion* (PCR) *Sequencing*.

D. Manfaat Penelitian

1. Manfaat Praktis

   Manfaat praktis dari penelitian ini adalah dapat digunakan sebagai data deteksi polimorfisme gen EDN1 rs5370 pada pasien Diabetes Melitus dengan komplikasi Kardiovaskuler menggunakan teknik *Polymerase Chain Reacion* (PCR) *Sequencing*.

2. Manfaat Teoritis

   Manfaat teoritis dari penelitian ini adalah sebagai rujukan dalam edukasi deteksi gen EDN1 rs5370 pada pasien Diabetes Melitus dengan komplikasi Kardiovaskuler menggunakan teknik *Polymerase Chain*

Reacion (PCR) *Sequencing* sehingga dapat menjadi dasar dalam menambah wawasan ilmiah

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjuan Umum Diabetes Melitus

Diabetes Melitus merupakan gangguan metabolisme jangka panjang yang ditandai oleh hiperglikemia. Kondisi ini disebabkan oleh defisiensi insulin atau penurunan sensitivitas sel terhadap insulin, sehingga glukosa tidak dapat diangkut ke dalam sel untuk diubah menjadi energi (Simbolon, 2021).

Insulin merupakan hormon yang dihasilkan oleh sel β pankreas yang berperan dalam mengontrol kadar gula dalam darah dengan mengatur tubuh menggunakan dan menyimpan gula. Diabetes Melitus dapat terjadi karena produksi insulin berkurang akibat kerusakan sel β pankreas atau karena sel-sel tubuh menjadi resistensi terhadap insulin yang dimana resistensi insulin dari sel-sel tubuh seperti otot, jaringan, dan hati tidak merespon insulin dengan baik sehingga gula darah sulit dikontrol (Hardianto, 2021).

Glukosa yang dihasilkan dari makanan akan beredar dalam darah. Pada pasien DM, sel-sel dalam tubuh berhenti berespon terhadap insulin atau pankreas berhenti memproduksi insulin, hal ini mengakibatkan hiperglikemia sehingga dalam waktu tertentu dapat menyebabkan komplikasi metabolik akut, selain itu dalam jangka panjang hiperglikemia menyebabkan komplikasi makrovaskular, komplikasi mikrovaskular dan komplikasi neuropatik (Simbolon, 2021).

Kondisi kronik hiperglikemia pada pasien diabetes berhubungan dengan kerusakan jangka panjang, disfungsi dan kegagalan organ terutama mata, ginjal, saraf, dan pembuluh darah (Simbolon, 2021).

1. Etiologi

   Etiologi dari penyakit Diabetes Melitus ialah gabungan dari faktor genetik dan faktor lingkungan, selain itu juga akibat sekresi atau kerja insulin, abnormalitas metabolik yang mengganggu sekresi insulin, abnormalitas mitokondria, dan sekelompok kondisi lain yang mengganggu toleransi glukosa (Lestari et al., 2021).

   Diabetes Melitus terjadi ketika tubuh tidak mampu menghasilkan atau menggunakan isnulin sehingga menyebabkan kadar glukosa darah dalam tubuh menjadi banyak (Lestari et al., 2021).

2. Klasifikasi

   Menurut (Care & Suppl, 2021) Diabetes dapat diklasifikasikan ke dalam kategori umum berikut :

   a. Diabetes Tipe 1 yang terjadi akibat penghancuran autoimun dari sel β penghasil insulin. Diabetes Tipe 1 merupakan penyakit autoimun dimana sistem kekebalan tubuh menghancurkan sel pankreas yang bertugas untuk produksi insulin, sehingga ketika pankreas berhenti memproduksi insulin maka kadar glukosa dalam darah akan bertambah banyak. Gejala yang sering muncul yaitu poliuri, polidipsi, berat badan turun drastis.

b. Diabetes Tipe 2 yang terjadi akibat dampak dari gangguan sekresi insulin yang biasanya menyerang individu yang berusia 40 tahun ke atas. Pada Diabetes ini, pankreas dapat menghasilkan insulin dengan baik, tetapi tubuh tidak merespon dengan baik sehingga menyebabkan resistensi insulin. Akibatnya ialah berlebihannya insulin yang dihasilkan oleh pankreas sehingga kadar glukosa dalam darah meningkat. Diabetes Tipe 2 ini terjadi akibat gaya hidup yang kurang sehat, seperti kurangnya aktivitas, konsumsi makanan yang dapat menimbulkan obesitas.

c. Diabetes Tipe lain terjadi akibat beberapa faktor, yaitu faktor genetik pada sel β, kelainan genetika pada kinerja insulin, penyakit pankreas eksokrin, serta infeksi *rubella kongenital* dan *sitomegalovirus*.

d. Diabetes Gestasional yang disebabkan oleh resistensi insulin selama kehamilan, biasanya terjadi pada trimester kedua dan ketiga saat kehamilan, dan kerja insulin akan kembali normal setelah melahirkan.

3. Patofisiologi

a. Diabetes Melitus Tipe 1

Diabetes tipe 1 adalah penyakit autoimun yang cukup umum, terutama pada anak-anak dan remaja. Penyakit ini terjadi ketika sistem kekebalan tubuh menyerang sel-sel di pankreas yang berfungsi menghasilkan insulin. Akibatnya, tubuh kekurangan insulin dan kadar gula darah menjadi semakin tinggi. Diabetes tipe 1 dapat menyebabkan berbagai komplikasi serius, seperti penyakit jantung dan pembuluh

darah. Autoantibodi ini membantu untuk mendiagnosis, terutama pada orang dewasa yang baru terkena diabetes di usia lanjut dimana kerusakan sel y pankreas terjadi pada tingkat yang sangat lambat (Banday et al., 2020a).

Jenis Diabetes tipe 1 yang muncul di usia dewasa sering disebut sebagai LADA (*Latent Autoimmune Diabetes in Adults*) yang merupakan jenis diabetes autoimun yang umum terjadi pada orang dewasa. Kekurangan insulin, baik pada anak-anak maupun orang dewasa ditandai dengan rendahnya kadar C-peptida atau bahkan tidak terdeteksi dalam darah (Banday et al., 2020a).

b. Diabetes Melitus Tipe 2

Diabetes tipe 2 (T2DM), juga disebut diabetes yang tidak tergantung insulin atau diabetes orang dewasa, ialah jenis diabetes yang paling umum yaitu sekitar 90-95% dari semua kasus Diabetes. Penyakit ini ditandai oleh dua masalah utama terkait insulin yaitu tubuh menjadi resisten terhadap insulin dan sel-sel penghasil insulin (sel beta) tidak berfungsi dengan baik (Banday et al., 2020a).

Resistensi insulin terjadi karena sel-sel tubuh terutama di otot, hati, dan lemak, menjadi sensitif terhadap insulin sehingga gula darah sulit masuk ke dalam sel untuk dijadikan energi. Pada tahap awal, pankreas mengatasi resistensi insulin dengan memproduksi lebih banyak. Hal ini membuat kadar insulin dalam darah menjadi tinggi (*hyperinsulinemia*). Namun secara bertahap, pankreas tidak lagi mampu memproduksi

insulin dalam jumlah yang cukup untuk mengatasi resistensi insulin yang semakin buruk. Selain itu, sel-sel jumlah penghasil insulin semakin berkurang sehingga terjadi defisiensi insulin. Oleh karena itu kadar gula darah tidak bisa dipertahankan dalam kondisi normal dan menjadi terlalu tinggi. Walaupun produksi insulin berkurang, biasanya cukup untuk mencegah terjadinya Ketoasidosis Diabetik (KAD) (Banday et al., 2020).

Penyebab Diabetes tipe 2 sangat kompleks dan dipengaruhi oleh banyak faktor, baik yang sudah diketahui maupun yang belum. Secara umum, Diabetes tipe 2 ini muncul karena kombinasi antara faktor keturunan (genetik) dan faktor lingkungan. Faktor lingkungan yang sering dikaitkan dengan Diabetes tipe 2 antara lain seperti usia yang semakin tua, obesitas, riwayat keluarga Diabetes, kurang gerak, gaya hidup modern, riwayat Diabetes gestasional (GDM) pada wanita, tekanan darah tinggi, dan kadar lemak darah yang tidak normal (Banday et al., 2020a).

Obesitas sangat berpengaruh pada gula darah dalam tubuh karena menyebabkan tubuh menjadi resisten terhadap insulin. Hampir semua penderita Diabetes tipe 2 mengalami kelebihan berat badan atau obesitas. Jumlah lemak tubuh yang berlebihan dan distribusi lemak yang tidak merata merupakan faktor risiko utama Diabetes tipe 2. Lemak yang berlebihan dapat menyebabkan resistensi insulin yang

kemudian berujung pada peningkatan kadar gula darah (Banday et al., 2020).



Gambar 2. 1 Faktor Resiko Utama Diabetes Melitus tipe 2 (Banday et al., 2020)

c. Diabetes Melitus Gestasional

GDM didefinisikan sebagai kondisi di mana terjadi gangguan toleransi terhadap glukosa atau Diabetes yang terdiagnosis selama kehamilan, umumnya pada trimester kedua atau ketiga. Definisi sebelumnya juga mencakup Diabetes tipe 2 yang tidak terdiagnosis sebelum atau pada awal kehamilan (Banday et al., 2020).

Selama awal kehamilan, kadar glukosa darah puasa dan pasca makan biasanya lebih rendah dari normal tetapi kadar glukosa darah meningkat selama trimester ketiga kehamilan, dan dalam kasus di mana kadar glukosa darah ini mencapai kadar Diabetes, kondisi tersebut digambarkan sebagai GDM. Lebih dari 90% dari semua kasus Diabetes dan komplikasinya yang terjadi selama kehamilan dapat dikaitkan dengan GDM. Insiden GDM bervariasi dari 1% hingga 14% dari semua

kehamilan. Prevalensi GDM tertinggi di antara orang India Asia, lebih tinggi pada penduduk asli Australia, Timur Tengah (Lebanon, Suriah, Iran, Irak, atau Afghanistan), Filipina, Kepulauan Pasifik, dan wanita Tiongkok, Jepang, Korea, dan Meksiko. Prevalensinya lebih rendah pada orang kulit hitam dan terendah pada wanita kulit putih non-Hispanik (Banday et al., 2020).

Risiko terjadinya GDM meningkat seiring bertambahnya usia, obesitas, riwayat melahirkan bayi dengan berat badan lahir tinggi, dan riwayat gangguan toleransi glukosa sebelumnya. GDM juga merupakan faktor risiko yang signifikan untuk pengembangan Diabetes tipe 2 di masa depan. Oleh karena itu, skrining rutin dan pemantauan jangka panjang terhadap gangguan glukosa sangat disarankan untuk mendeteksi dini diabetes tipe 2 (Banday et al., 2020).

4. Patogenesis

Diabetes Melitus penyakit kompleks yang dipengaruhi oleh faktor genetik, gaya hidup, lingkungan sosial, dan akses terhadap layanan kesehatan. Komplikasi diabetes dapat dibagi menjadi dua kategori utama, yaitu mikrovaskuler yang melibatkan kerusakan pembuluh darah kecil pada saraf, ginjal, dan mata, serta makrovaskuler yang melibatkan kerusakan pembuluh darah besar seperti jantung dan pembuluh darah (Lestari et al., 2021).

Banyak hal yang bisa meningkatkan risiko seseorang terkena Diabetes tipe 2 seperti usia, aktivitas fisik, paparan asap rokok, berat badan, tekanan

darah, tingkat stres, gaya hidup, riwayat keluarga, kadar kolesterol, diabetes saat hamil, dan masalah gula darah sebelumnya. Penelitian yang dilakukan oleh Trisnawati (2020) menunjukkan bahwa faktor seperti riwayat keluarga diabetes, kurang olahraga, usia tua, stres, tekanan darah tinggi, dan kadar kolesterol yang tidak normal bisa meningkatkan risiko terkena Diabetes tipe 2. Selain itu, orang yang obesitas memiliki risiko 7 kali lebih besar terkena diabetes dibandingkan orang dengan berat badan normal (Lestari et al., 2021).

B. Komplikasi Diabetes Melitus

Diabetes Melitus yang sering disebut sebagai "*the silent killer*" merupakan penyakit kronis yang dapat menyebabkan kerusakan pada berbagai sistem organ tubuh dan berujung pada komplikasi yang mengancam jiwa. Seiring waktu, Diabetes dapat menyebabkan kerusakan pada berbagai bagian tubuh, yang dikenal sebagai komplikasi (Rif'at et al., 2023).

Komplikasi Diabetes Melitus dapat berupa komplikasi kronis yang disebut dengan makrovaskuler dengan mencakup cerebrovaskuler, kardiovaskuler, dan penyakit pembuluh darah perifer atau komplikasi akut yang disebut dengan mikrovaskuler dengan penebalan dinding pembuluh darah kapiler dan arteriol sebagai respon terhadap kondisi hiperglikemia kronis. Selain itu komplikasi Diabetes Melitus akut dapat berupa keadaan hiperglikemia, diabetes ketoasidosis, dan hiperglikemik hiperosmolar nonketotik juga dapat terjadi (Makalew, 2021).

Tujuan utama dari perawatan medis bagi penderita diabetes adalah meningkatkan kualitas hidup mereka. Namun kenyataannya, penderita diabetes yang gula darahnya tidak stabil seringkali memiliki kualitas hidup yang lebih rendah. Lansia dengan diabetes memiliki risiko lebih tinggi mengalami komplikasi serius dan kematian dibandingkan kelompok usia yang lebih muda (Edwina et al., 2015).

C. Komplikasi Kardiovaskuler

Berdasarkan *data dari World Health Organization* (WHO), faktor risiko PJK yang ikut berperan menyebabkan kematian adalah tingginya tekanan darah (13% dari kematian global), diikuti oleh konsumsi tembakau (9%), peningkatan gula darah (6%), rendahnya aktivitas fisik (6%), dan kelebihan berat badan atau obesitas (5%). (Pintaningrum et al., 2020).

Penyakit kardiovaskular merupakan penyebab utama kematian di seluruh dunia. Di Eropa, tercatat lebih dari 4,1 juta kematian akibat penyakit kardiovaskular, dengan prevalensi penyakit arteri koroner sekitar 1,7 juta per tahun pada tahun 2019 menurut perkiraan Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) (Prasetyo et al., 2021).

Salah satu penyebab penyakit jantung adalah dimana ketika tubuh tidak dapat secara efektif menggunakan insulin yang dihasilkannya atau penyakit sistemik yang terjadi akibat pankreas tidak menghasilkan insulin yang cukup (hormon yang mengatur gula darah) (Torawoba et al, 2021).

Pada pasien dengan Diabetes tipe 2 yang memiliki kadar gula darah, tekanan darah, dan kolesterol yang tidak terkontrol, serta kebiasaan merokok terutama

bagi yang berusia >40 tahun lebih rentan mengalami kompilkasi jantung dan pembuluh darah. Faktor-faktor tersebut diketahui terkait dengan peningkatan stress oksidatif yang dimana berperan pada terjadinya proses disfungsi endotel pembuluh darah (Irfan & Israfil, 2020).

Disfungsi endotel adalah kondisi dimana lapisan dalam pembuluh darah kehilangan kemampuannya untuk mengatur berbagai proses seperti mengatur aliran darah, mencegah penggumpalan darah, dan mengendalikan peradangan sehingga dapat mengakibatkan terjadi masalah seperti penyempitan atau peradangan pada pembuluh darah (Kurniawan & Yanni, 2020).

Disfungsi endotel juga dapat berkontribusi terhadap komplikasi mikro dan makrovaskular diabetes. Disfungsi endotel menyebabkan peningkatan regulasi endothelin-1 (ET-1) dan dapat menyebabkan perubahan pada dinding pembuluh darah seperti pembentukan trombosis dan plak. Dinyatakan bahwa kadar plasma ET-1 meningkat pada pasien dengan Diabetes tipe 1 dan tipe 2 (Maslat et al., 2024).

Kenaikan kadar endothelin-1 (ET-1) sering ditemukan pada pasien diabetes dengan komplikasi. ET-1 ini berperan dalam meningkatkan tekanan darah dengan cara menyempitkan pembuluh darah. Selain itu, ET-1 juga memicu peradangan yang dapat merusak struktur pembuluh darah dan mengganggu fungsinya seperti kardiovaskuler (Kurniatmaja et al., 2017).

D. Tinjuan Umum Gen EDN1 rs5370

1. Definisi

Lapisan endotel pembuluh darah koroner yang normal akan mengalami kerusakan karena adanya faktor resiko seperti hipertensi, zat-zat vasokonstriktor, mediator (sitokin) dari sel darah merah, asap rokok, diet aterogenik, dan peningkatan kadar gula darah serta oksidasi dari LDL-C (Majid, 2022).

Endotelin-1 (EDN-1) adalah varian genetik (polimorfisme) yang terletak pada gen EDN1. Gen EDN1 sendiri mengkode protein endotelin-1, sebuah molekul yang memiliki peran penting dalam sistem kardiovaskuler. Endotelin-1 berfungsi sebagai vasokonstriktor kuat, artinya ia dapat menyebabkan penyempitan pembuluh darah. Ini adalah salah satu dari keluarga tiga Endotelin yang mengerahkan aksinya melalui dua reseptor yang digabungkan dengan protein G, reseptor endotelin-A (EDNA) dan reseptor endotelin-B (EDNB), dan EDN-1. Terdiri dari 21 asam amino dan masing-masing dikodekan pada kromosom 6, 11, dan 20. Gen EDN1 mengandung 5 ekson dan menjangkau 6.8 Kb DNA genomik, dan mengkodekan protein EDN-1. Vasokonstriksi yang dimediasi EDN-1 mampu memicu keadaan hipoksia yang kemudian merangsang angiogenesis patologis yang muncul pada retinopati diabetik sehingga kadar EDN-1 plasma ditemukan meningkat (Maslat et al., 2024).

Endotel-1 juga terlibat dalam berbagai proses, seperti regulasi tekanan darah yang artinya vasokontriksi yang dihasilkan oleh endotelin-1 dapat

meningkatkan tekanan darah, pertumbuhan dan diferensiasi serta migrasi sel dimana dalam pada proses proliferasi Endotelin-1 berfungsi merangsang pembelahan dan pertumbuhan sel, diferensiasi sel Endotelin-1 dapat mempengaruhi proses diferensiasi itu sendiri dimana sel – sel yang belum terdefinisi berkembang menjadi sel yang memiliki fungsi dan karakteristik yang spesifik seperti Endotelin-1 dapat mendorong sel – sel menjadi tipe sel tertentu dalam tubuh contohnya pembuluh darah. Migrasi sel yang artinya ialah proses dimana sel – sel bergerak dari satu tempat ke tempat lain dalam tubuh (Rizk et al., 2021b).

2. Polimorfisme Gen EDN1 rs5370

Polimorfisme genetik mengacu pada variasi dalam urutan DNA yang ditemukan dalam suatu populasi, di mana perbedaan tersebut terjadi pada lebih dari 1% individu dalam populasi tersebut. Variasi ini bisa berupa perubahan satu nukleotida (yang dikenal sebagai SNP atau polimorfisme nukleotida tunggal) atau perubahan yang lebih signifikan dalam urutan DNA (Valentine & Tina, 2020).

Single Nucleotida Polumorphism (SNP) ialah salah satu polimorfisme genetik yang paling umum, variasi pada satu nukleotida dalam urutan genetik. Pada gen Endotelin-1 rs5370 melibatkan perubahan satu nukleotida dalam urutan DNA pada lokasi tertentu ditemukan berhubungan dengan peningkatan atau penurunan produksi Endotelin-1 yang dapat mempengaruhi sistem pembuluh darah sehingga menyebabkan

risiko hipertensi (tekanan darah tinggi), penyakit jantung, atau stroke (Valentine & Tina, 2020).

Polimorfisme rs5370 dakam gen EDN1 dapat mempengaruhi kadar endotelin-1 yang dimana berhubungan dengan risiko dan perkembangan penyakit kardiovaskuler seperti Hipertensi yang dimana alel T pada rs5370 cenderung meningkatkan ekspresi endotelin-1 sehingga menyebabkan vasokontriksi dan mengakibatkan terjadinya penyempitan pembuluh darah (Nepal et al., 2019).

Polimorfisme rs5370 juga dapat berkontribusi pada pengembangan Aterosklerosis. Ekspresi Endotelin-1 yang lebih tinggi (terutama yang dipengaruhi oleh alel T) dapat menyebabkan proliferasi sel – sel otot polos vaskular dan pembentukan pembuluh darah, yang memperburuk penumpukan plak aterosklerotik di dinding pembuluh darah sehingga dapat meningkatkan risiko terjadinya serangan jantung atau stroke. Endotelin-1 juga dapat meningkatkan permeabilitas pembuluh darah dan berkontribusi pada inflamasi vaskular yang mempercepat terjadinya perkembangan aterosklerosis (Nepal et al., 2019)

Kerusakan pembuluh darah akan menyebabkan sel endotel menghasilkan *cell adhesion molecule* seperti sitokin (*interleukin -1*) (IL-1), tumor nekrosis faktor alfa (TNF-α), *monocyte chemoattractant factor* 1 atau kemokin (MCP-1, IL-8), dan *growth factor* (platelet *derivered growth factor*). Monosit dan limfosit T, dua jenis sel darah putih yang berperan dalam peradangan, menembus lapisan dalam pembuluh darah.

Monosit kemudian berkembang menjadi makrofag dan menyerap kolesterol jahat (LDL teroksidasi), yang lebih berbahaya bagi pembuluh darah dibandingkan kolesterol biasa sehingga mengakibatkan makrofag berubah menjadi sel busa (Majid, 2022).

E. Pemeriksaan Molekuler



Gambar 2. 2 Alat *Polymerase Chain Reaction* (PCR) (Setyawati & Zubaidah, 2021).

Polymerase Chain Reaction (PCR) merupakan teknik yang sangat penting dalam bidang genetika. Sebelum menerapkan PCR pada sampel penelitian, terlebih dahulu harus melakukan penyesuaian terhadap berbagai faktor seperti komposisi reagen dan kondisi reaksi agar hasil PCR yang kita dapatkan optimal dan dapat diandalkan (Setyawati & Zubaidah, 2021).

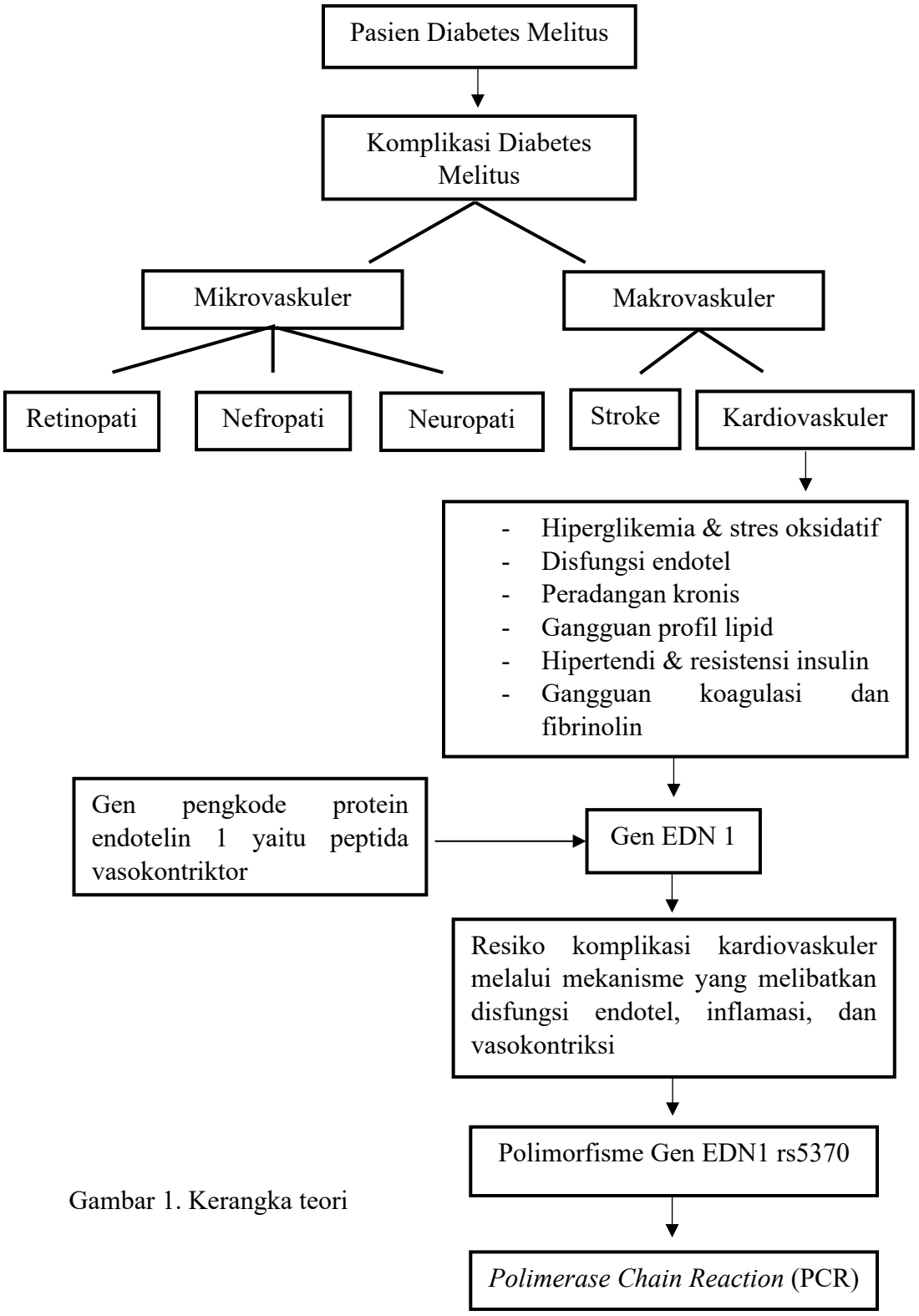
Kinerja PCR sangat dipengaruhi oleh berbagai faktor, termasuk jumlah bahan yang digunakan, suhu reaksi, dan durasi waktu setiap tahapan. Kondisi PCR yang optimal dapat bervariasi untuk setiap sampel DNA yang berbeda. Berbagai metode analisis DNA, mulai dari deteksi penyakit hingga identifikasi spesies, membutuhkan hasil amplifikasi DNA yang berkualitas tinggi. Kualitas

amplifikasi ini akan sangat mempengaruhi akurasi dan keandalan hasil analisis selanjutnya (Jannah, 2023).

Produk PCR yang dihasilkan akan dipisahkan berdasarkan ukurannya melalui elektroforesis. Hasil elektroforesis kemudian dianalisis secara visual untuk mendapatkan band yang optimal. Band optimal dicirikan oleh intensitas yang tinggi, kemurnian, dan ukuran yang sesuai dengan target amplikon. Kombinasi konsentrasi primer dan suhu annealing yang menghasilkan band optimal inilah yang akan digunakan untuk PCR pada sampel selanjutnya (Setyawati & Zubaidah, 2021).

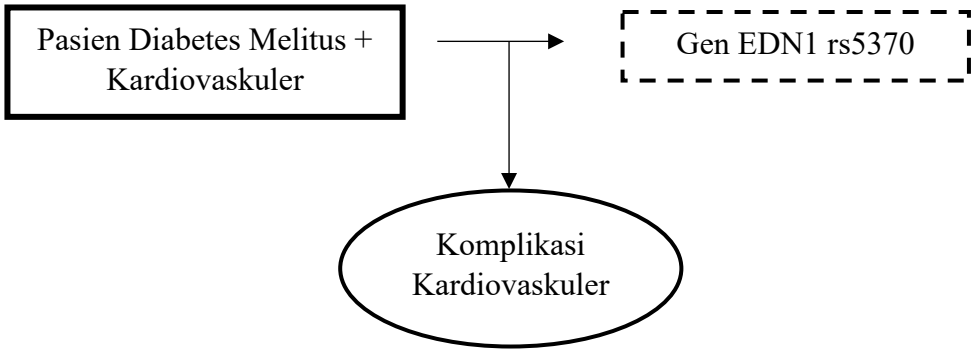
Polimorfisme gen EDN1 rs5370 dapat dianalisis melalui teknik Sanger *Sequencing*. Metode ini digunakan untuk menentukan urutan basa DNA dengan cara membandingkan hasil sekuensing sampel dengan data urutan DNA yang telah tersedia di gene bank. DNA yang akan diteliti berperan sebagai cetakan (template), kemudian diperbanyak melalui proses amplifikasi menggunakan enzim serta beberapa pereaksi khusus. Tahapan ini dikenal dengan istilah *cycle sequencing* (Mawaddah, dkk., 2022).

F. Kerangka Teori

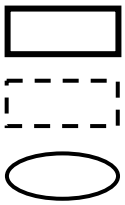


Gambar 1. Kerangka teori

G. Kerangka Konsep



Keterangan :



Variabel Independen

Variabel Dependen

Variabel Perancu

Gambar 2. Kerangka Konsep

H. Definisi Operasional

1. Diabetes Melitus adalah kondisi metabolik yang ditandai oleh hiperglikemia akibat gangguan sekresi insulin, kerja insulin, atau keduanya.
2. Komplikasi makrovaskuler adalah masalah kesehatan yang terjadi akibat kerusakan pembuluh darah kecil, yang sering terjadi pada pasien diabetes.
3. Polimorfisme gen EDN1 rs5370 adalah variasi genetik yang terjadi pada gen endotelin-1 (EDN1), yang terletak pada kromosom 6.
4. PCR adalah teknik laboratorium yang digunakan untuk memperbanyak segmen DNA tertentu.

5. Sequencing Sanger adalah metode analisis DNA yang digunakan untuk menentukan urutan basa nukleotida guna mendeteksi mutasi atau polimorfisme gen.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian deskriptif kuantitatif dengan deteksi Polimorfisme Gen EDN1 rs5370 pada pasien Diabetes Melitus dengan Komplikasi Kardiovaskuler menggunakan Teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) *Sequencing*.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

1. Lokasi Penelitian

   Pengambilan sampel dilakukan di RS Stella Maris Makassar. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium *Hasanuddin University Medical – Research Center* (HUM-RC) Makassar.

2. Waktu Penelitian

   Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Juni – Juli 2025.

C. Populasi dan Sampel Penelitian

1. Populasi

   Populasi sampel dalam penelitian ini adalah pasien Diabetes Melitus tipe 1 dan 2 dengan komplikasi atau riwayat Kardiovaskuler di RS Stella Maris.

2. Sampel

   Sampel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu 10 sampel pada pasien Diabetes Melitus yang melakukan perawatan di RS Stella Maris dengan riwayat atau komplikasi Kardiovaskuler.

D. Teknik Pengambilan Sampel

Pada penelitian ini menggunakan Teknik *Purposive Sampling* berdasarkan kriteria penelitian.

E. Kriteria Subjek Penelitian

Adapun kriteria sampel dalam penelitian ini :

1. Kriteria Inklusi
   a. Penderita Diabetes Melitus dengan komplikasi Kardiovaskuler di RS Stella Maris Makassar
   b. Pasien rawat jalan dan rawat inap di RS Stella Maris Makassar
   c. Pasien yang menjalani perawatan 1 hingga 11 bulan terakhir
2. Kriteria Eksklusi
   a. Pasien Diabetes Melitus dengan komplikasi Kardiovaskuler yang menjalani perawatan >11 bulan terakhir
   b. Tidak bersedia menjadi responden

F. Instrumen Penelitian

1. Alat

   Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut : Rak Tabung, Mikropipet (*Bio-Rad)* 0,5-10µl ; 2-20µl ; 20-200µl ; 100-1000µl, Inkubator (*Heidolph Titramax* 1000), Mesin Sentrifugasi (BIOFUGE Pico), Vortex (*Heidolph Reax Control*), *Laminar air flow* (ESCO), Neraca Analitik (*Kern)*, Cetakan Gel, Doc UV Transluminator (*Biorad)*, Alat PCR(*C1000 Touch Thermal Cycler*), Chamber Elektroforesis (*Bio-rad),*

Collection Tube, Gelas Ukur, Sentrifuge Mini (*Biofuge pico),* Sisiran Gel (*Comb)*, *Microwave (Electrolux).*

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bahan penelitian meliputi : Sampel serum, Filter Tip 1000µl, Filter Tip 200µl, Filter Tip 20µl, tabung Mikrosentrifuge 1.5ml, Kit Ekstraksi (Geneid), Etanol Absolut, ddH_2O atau *Nuclease Free Water* (NFW), Bubuk Gel Agarose, *Tris Borate* EDTA *buffer* (TBE) 0,5x, Ethidium Bromida (ETBR), dan EDN1 rs5370 *Forward Primer* (5′-TCTTGCTTTATTAGGTCGGAGACC-3′) *Reverse Primer* (5′-TTTGAACGAGGACGCTGGTC-3′) bp 262 (Tousoulis, dkk., 2023).

G. Prosedur Kerja

1. Pengambilan sampel

Peneliti melakukan pengambilan darah vena pada lengan kanan menggunakan spuit, lalu dibersihkan bagian lengan titik penusukan menggunakan alkohol swab 70%, dimasukkan jarum ke arah vena pasien lalu ditarik *plunger top* secara perlahan agar *barrel* terisi dengan sampel lalu dibuka torniquet dan ditarik *plunger top* hingga volume sampel terpenuhi. Dipindahkan sampel ke tabung merah atau yang berisi antikoagulan EDTA lalu dihomogenkan secara perlahan dan pada tabung diberi label kode serta nama pasien. Dimasukkan kedalam *coolbox* setelah semua sampel terkumpul selanjutnya dibawa ke Laboratorium HUM-RC untuk pemeriksaan *Polymerase Chain Reaction* (PCR).

2. Pemeriksaan molekuler

a. Tahapan ekstraksi DNA

Sampel darah vena diekstraksi sesuai protokol DNA kit. Tahap pertama yang dilakukan dalam ekstraksi DNA yaitu proses pelisisan sel, dimana sebanyak 200µl sampel dimasukkan ke dalam tabung mikrosentrifuge 1,5ml steril lalu tambahkan 20µl proteinase K lalu vortex selama 10 detik kemudian inkubasi selama 5 menit pada suhu 60˚C kemudian tambahkan 200µl buffer GSB lalu vortex dan inkubasi kembali selama 2 menit pada suhu 60˚C setelah itu tambahkan etanol absolute sebanyak 200µl dan vortex selama 10 detik.

Tahap kedua yaitu pengikatan DNA (DNA *binding*) dilakukan dengan memindahkan semua sampel ke dalam tube spin column lalu sentrifuge selama 1 menit dengan kecepatan 14.000 rpm kemudian buang *collection tube* yang berada bagian bawah spin column lalu pipet sisa sampel dan pindahkan ke dalam tube yang baru.

Tahap ketiga yaitu pencucian (*washing*) dilakukan dengan menambahkan 400µl W1 buffer ke dalam tube lalu sentifuge selama 1 menit dengan kecepatan 14.000 rpm, buang endapannya dan tambahkan kembali W1 buffer sebanyak 600µl lalu sentrifuge selama 30 detik dengan kecepatan 14.000 rpm kemudian buang kembali cairan yang ada pada *tube collection* dan sentrifuge kembali selama 3 menit dengan kecepatan 14.000 rpm lalu buang *tube collection* dan letakkan

tabung eppendorf baru pada bagian bawah spin column dan pipet sisa sampel.

Tahap keempat yaitu *elution* dilakukan dengan memipet *elution buffer* sebanyak 100µl kemudian diamkan selama 3 menit lalu sentrifuge selama 30 detik dengan kecepatan 14.000 rpm. Hasil ekstraksi disimpan pada lemari es dengan suhu -4˚C untuk digunkan sebagai template PCR.

b. Amplifikasi DNA dan PCR

Dilakukan pembuatan Mix PCR dengan menyaipkan tabung *Eppendorf,* selanjutnya pipet enzim sebanyak 112,5µl kedalam tabung *Eppendorf* lalu ditambahkan Primer Gen EDN1 rs5370 *Forward Primer* (5′-TCTTGCTTTATTAGGTCGGAGACC-3′) *Reverse Primer* (5′-TTTGAACGAGGACGCTGGTC-3′). Masing-masing 9µl dan yang terakhir ditambahkan *Nuclease free Water* (NFW) sebanyak 13,5µl kemudian di vortex selama 1 menit lalu dipipet Mix PCR masing-masing 10µl kedalam tabung PCR, kemudian ditambahkan masing-masing 2,5µl template DNA hasil ekstraksi kedalam Tabung PCR kemudian di spin down.

Selanjutnya dimasukkan tabung berisi sampel PCR Mix kedalam alat PCR (*C1000 Touch Thermal Cyclear*). Proses reaksi PCR terdiri dari tahap *predenaturasi* 95ºC selama 2 menit yang diikuti oleh tahap denaturasi 95ºC selama 30 detik, tahap anneling 55ºC selama 30 detik dan tahap *ekstension* 72ºC selama 1 menit dan yang terakhir tahap *post*

ekstension pada suhu 72ºC selama 10 menit. Proses PCR dilakukan secara berulang selama 30 siklus.

c. Tahapan elektroforesis

Hasil amplifikasi kemudian dilanjutkan dengan elektroforesis menggunakan gel agarose 2%. Terlebih dahulu membuat gel agarose dengan cara timbang bubuk agarose sebanyak 4g lalu campurkan dengan 200ml *Tris Borate* EDTA (TBE) lalu homogenkan dan panaskan menggunakan *microwave* selama 2 menit dengan suhu 100˚C kemudian pipet Etidium Bromida (EtBr) sebanyak 10µl dan homogenkan lalu tuang kedalam cetakan gel yang telah dipasangkan sisiran dan tunggu hingga mengeras. Masukkan gel agarose kedalam chamber elektroforesis lalu tambahkan larutan buffer TBE 0,5x kedalam chamber sampai tanda batas maksimal dan pipet masing – masing sampel DNA sebanyak 10µl kedalam sumur pertama hingga sumur ke duabelas lalu pipet control positif dan negative pada sumuran berikutnya serta pada sumuran akhir dipipet leader marker sebanyak 5µl. Setelah itu, tutup chamber dan atur arus listrik 400 volt selama 45 menit proses elektroforesis dengan kuat arus 100mA lalu tekan tanda "RUN" kemudian setelah proses elektroforesis selesai gel diangkat lalu baca dengan menggunakan alat visualisasi Bio-rad *Geldoc UV Transilluminator.*

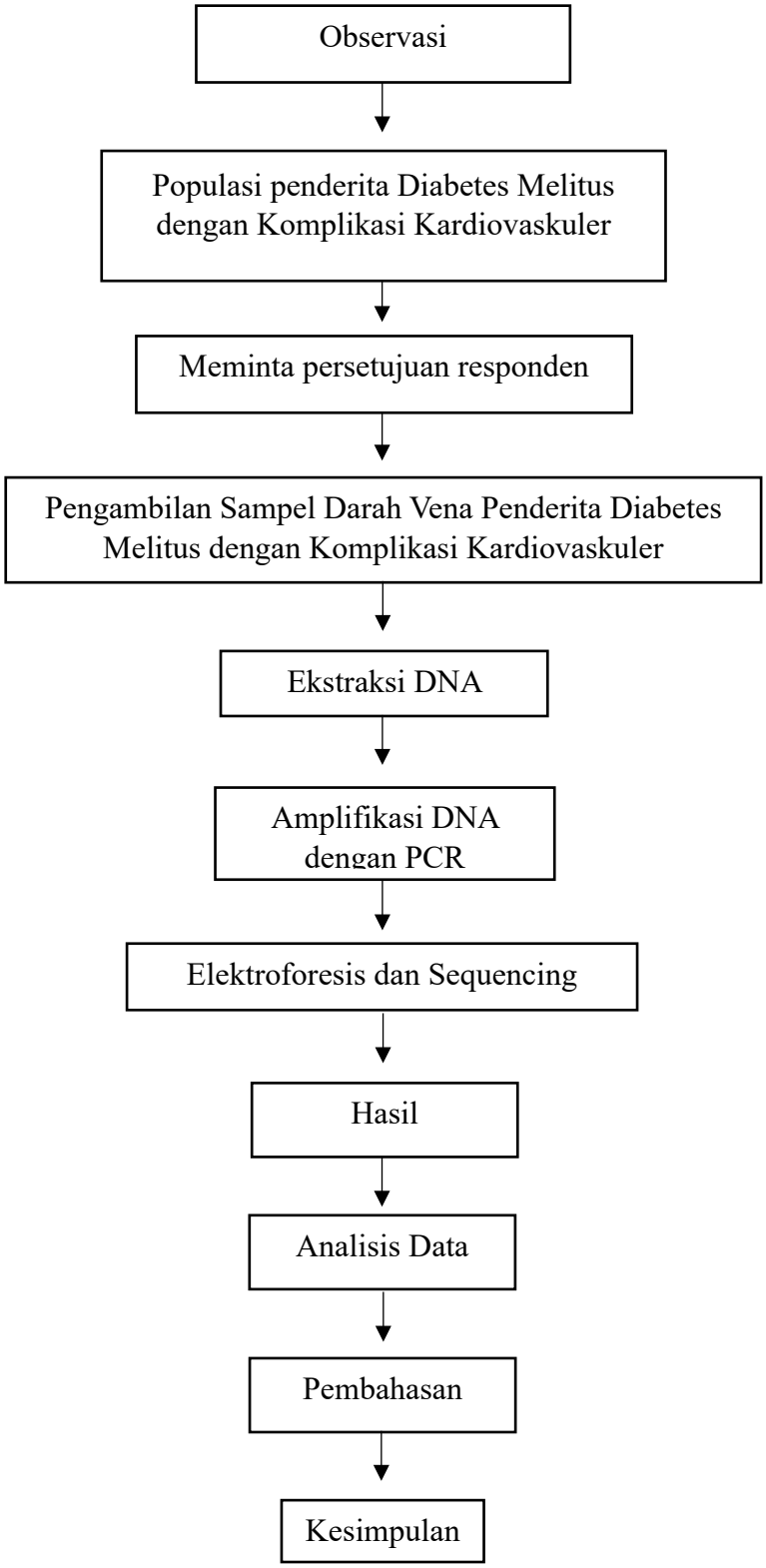
H. Interpretasi Hasil

Dalam penelitian ini untuk mengetahui hasil yang didapatkan dilakukan dengan cara pemeriksaan laboratorium melalui Teknik PCR untuk melihat adanya pita DNA yang terbentuk pada hasil pemeriksaan sampel dengan primer yang telah ditentukan. Hasil positif ditandai dengan adanya terbentuk pita DNA pada ukuran 262bp dan dilanjutkan pada metode *Sequencing*.

I. Analisis Data

Data hasil uji di sajikan dalam bentuk tabel menggunakan pendekatan deskriptif dengan menyajikan data dalam bentuk gambar daan tabel. Dimana seluruh data diperoleh dari seluruh pengamatan yang ditunjukkan pada hasil elektroforesis dan *sequencing,* hasil positif di tandai dengan terbentunya pita dan hasil negatif ditandai dengan tidak munculnya pita DNA Gen EDN1 rs5370 bp 262.

J. Alur Penelitian



Gambar 3. Alur Penelitian

K. Etika Penelitian

Pada penelitian ini menggunakan manusia sebagai subjek sehingga dalam pelaksanaannya tidak boleh bertentangan dengan etika penelitian. Etika penelitian diperlukan untuk menghindari terjadinya tindakan tidak etis dalam melakukan penelitian, maka dilakukan sebagai berikut :

1. Sebelum melakukan penelitian, peneliti akan meminta izin kepada pihak Penyedia Layanan Kesehatan dan pihak Laboratorium *Hasanuddin University Medical – Research Center* (HUM – RC).
2. Setiap subjek akan dijamin kerahasiaannya atas data yang diperoleh dari hasil tes dengan tidak menuliskan nama pasien tetapi hanya berupa kode sampel.
3. Peneliti menjaga kerahasiaan, dalam hal ini semua menggunakan inisial dan hanya digunakan untuk penelitian saya serta penyajian hanya dalam forum akademik.
4. Keadilan dan inkusivitas penelitian dilakukan secara jujur, hati – hati dan profesional

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

Berdasarkan hasil Deteksi gen EDN1 rs5370 pada pasien Diabetes Melitus di Rumah Sakit Stella Maris Makassar telah dilakukan dengan metode Polymerase Chain Reaction (PCR) yang dilanjutkan dengan metode sequencing. Penelitian ini berlangsung pada bulan Juni hingga Juli 2025 di Hasanuddin University Medical Research Center (HUMRC), Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin. Dari 10 sampel serum yang diperoleh di RS Stella Maris, ditemukan bahwa 1 sampel yakni kode sampel nomor 9 mengalami perubahan basa G menjadi T pada posisi nukleotida ke-5665, hal ini menandakan bahwa adanya Polimorfisme rs5370. Selain itu, pada dua sampel lainnya (kode sampel nomor 1 dan 6) terdeteksi perubahan satu nukleotida namun tidak menyebabkan perubahan asam amino. Sementara itu, 7 sampel lainnya menunjukkan hasil sequencing yang normal atau tidak mengalami mutasi.

1. Karakteristik Subjek Penelitian

   Subjek dari penelitian ini adalah pasien penderita Diabetes Melitus yang berada di Rumah Sakit Stella Maris Kota Makassar. Sampel yang telah di kumpulkan di bawa Laboratorium Biologi Molekuler Hasanuddin *University Medical Research Center* (*HUMRC*) kota Makassar. Terdapat tiga karakteristik pada penelitian ini terkait dengan data yang di sajikan yaitu usia, jenis kelamin dan lama menderita Diabetes.

Tabel 4.1 Distribusi subjek berdasarkan karakteristik penelitian

Karakteristik	N	%
Usia		
50-65	4	40%
66-81	5	50%
>81	1	10%
Total	10	100%
Jenis kelamin		
Perempuan	3	30%
Laki-laki	7	70%
Total	10	100%
Lama menderita Diabetes		
1-4 tahun	1	10%
5-10 tahun	4	40%
12-20 tahun	5	50%
Total	10	100%

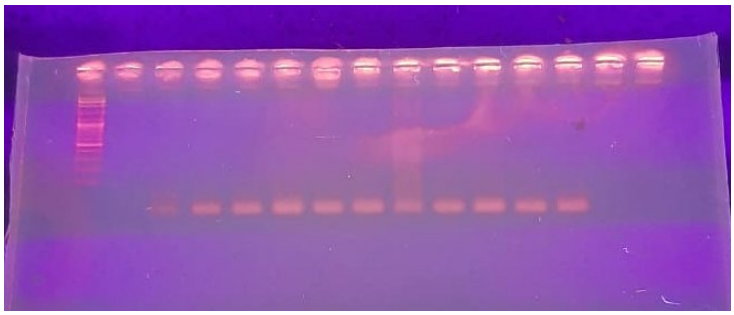
Data Primer, 2025

Hasil penelitian ini didasarkan pada karakteristik pasien penderita Diabetes Melitus berdasarkan usia di Rumah Sakit Stella Maris Kota Makassar, diketahui bahwa responden yang berusia 50-65 tahun berjumlah 4 orang dengan persentase 40%, yang berusia 66-81 tahun berjumlah sebanyak 5 orang dengan persentase 50% dan responden yang berusia >81 tahun berjumlah sebanyak 1 orang dengan persentase 10% sedangkan karakteristik responden yang berjenis kelamin perempuan berjumlah 3 orang dengan persentase 30% dan laki – laki berjumlah 7 orang dengan persentase 70%.

Berdasarkan pada karakteristik lama menderita Diabetes, diketahui bahwa responden yang lama menderita Diabetes 1-4 tahun berjumlah 1 orang dengan

persentase 10%, responden yang menderita Diabetes 5-10 tahun berjumlah 4 orang dengan persentase 40% dan responden yang menderita Diabetes 12-20 tahun berjumlah sebanyak 5 orang dengan persentase 50%.

2. Hasil Pemeriksaan *Polymerase Chain Reaction* (PCR)



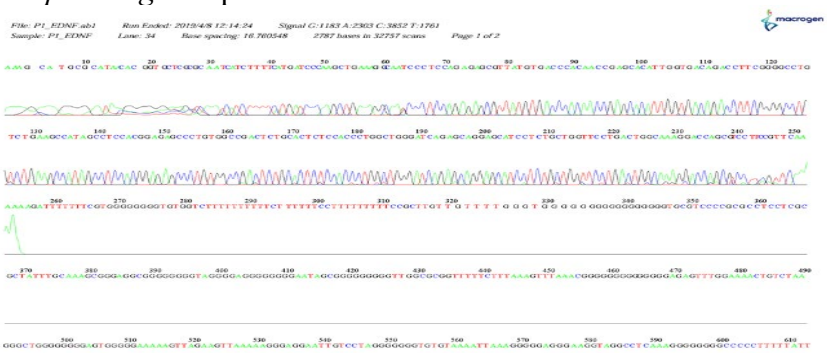
Gambar 2. 3 Hasil Elektroforesis

M	= Marker / Penanda
1 – 10	= Sampel
262bp	= Ukuran Marker Gen

Berdasarkan hasil pengamatan deteksi gen EDN1 rs5370 pada pasien Diabetes Melitus menggunakan metode PCR kemudian divisualisasikan dengan melakukan Elektroforersis dibawah sinar UV (Ultra Violet). Dari 10 sampel yang digunakan menunjukkan bahwa sampel tersebut telah dilanjutkan ke metode *Sequencing*, hal ini ditandai dengan terbentuknya pita DNA pada ukuran 262bp.

3. Hasil Pemeriksaan *Sequencing*

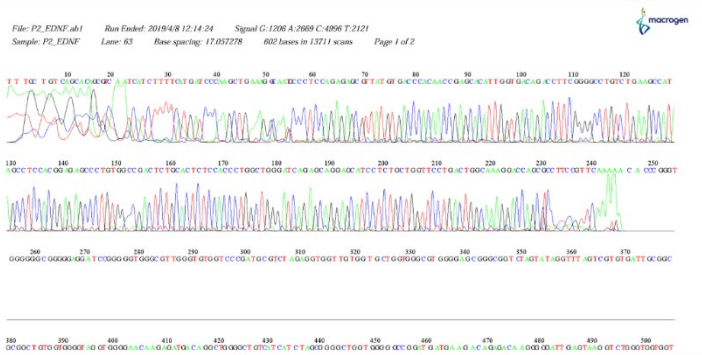
a. Hasil *Sequencing* Sampel 1



Gambar 2.4 Hasil *Sequencing* Sampel 1

Sampel 1 menunjukkan adanya perubahan nukleotida pada gen EDN1 rs5370, namun kodon yang dihasilkan tetap mengkode asam amino yang sama (Lisin, Lys). Dengan demikian, mutasi ini termasuk *non sence mutation*, yaitu perubahan basa yang tidak mengubah urutan asam amino dalam protein endotelin-1.

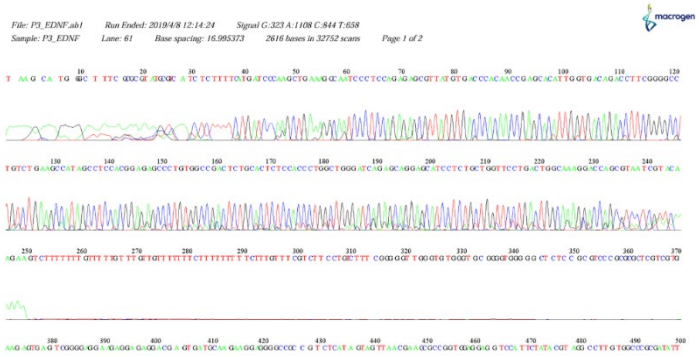
b. Hasil *Sequencing* Sampel 2



Gambar 2.5 Hasil *Sequencing* Sampel 2

Pada sampel 2 menunjukkan puncak tunggal basa G pada posisi polimorfisme gen EDN1 rs5370 (kodon 198). Hal ini menandakan bahwa sampel memiliki genotipe GG (homozygot wild-type) dengan kodon AAG, yang mengkode asam amino Lisin (Lys) pada posisi ke-198 protein endotelin-1.

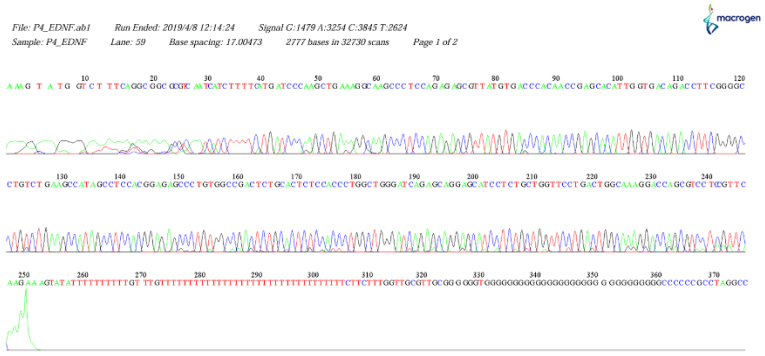
c. Hasil *Sequencing* Sampel 3



Gambar 2.6 Hasil *Sequencing* Sampel 3

Pada sampel 3 menunjukkan puncak tunggal basa G pada posisi polimorfisme gen EDN1 rs5370 (kodon 198). Hal ini menandakan bahwa sampel memiliki genotipe GG (homozygot wild-type) dengan kodon AAG, yang mengkode asam amino Lisin (Lys) pada posisi ke-198 protein endotelin-1.

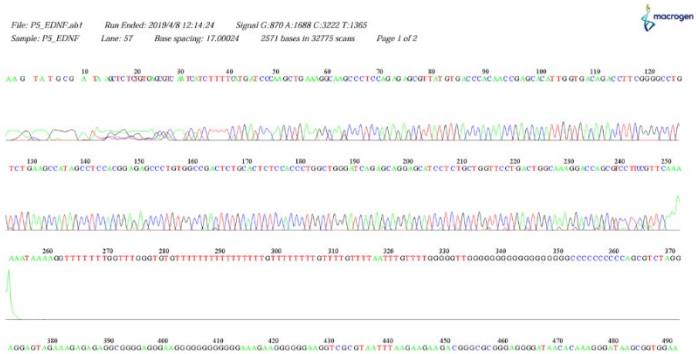
d. Hasil *Sequencing* Sampel 4



Gambar 2.7 Hasil *Sequencing* Sampel 4

Pada sampel 4 menunjukkan puncak tunggal basa G pada posisi polimorfisme gen EDN1 rs5370 (kodon 198). Hal ini menandakan bahwa sampel memiliki genotipe GG (homozygot wild-type) dengan kodon AAG, yang mengkode asam amino Lisin (Lys) pada posisi ke-198 protein endotelin-1.

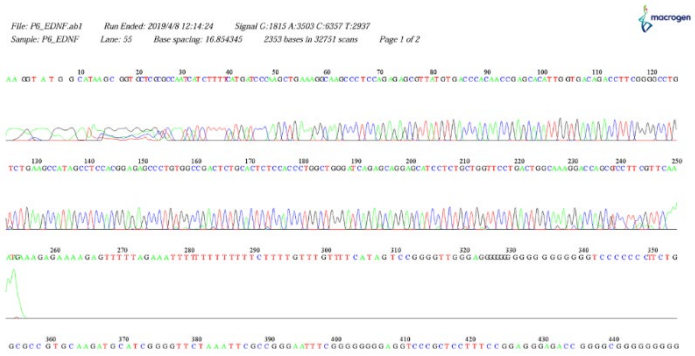
e. Hasil *Sequencing* Sampel 5



Gambar 2.8 Hasil *Sequencing* Sampel 5

Pada sampel 5 menunjukkan puncak tunggal basa G pada posisi polimorfisme gen EDN1 rs5370 (kodon 198). Hal ini menandakan bahwa sampel memiliki genotipe GG (homozygot wild-type) dengan kodon AAG, yang mengkode asam amino Lisin (Lys) pada posisi ke-198 protein endotelin-1.

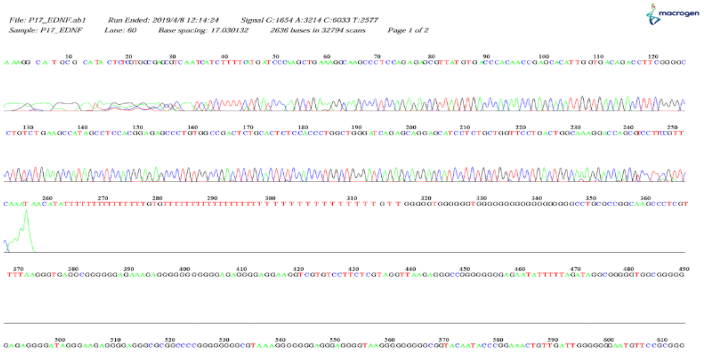
f. Hasil *Sequencing* Sampel 6



Gambar 2.9 Hasil *Sequencing* Sampel 6

Sampel 6 menunjukkan adanya perubahan nukleotida pada gen EDN1 rs5370, namun kodon yang dihasilkan tetap mengkode asam amino yang sama (Lisin, Lys). Dengan demikian, mutasi ini termasuk *non sence mutation*, yaitu perubahan basa yang tidak mengubah urutan asam amino dalam protein endotelin-1.

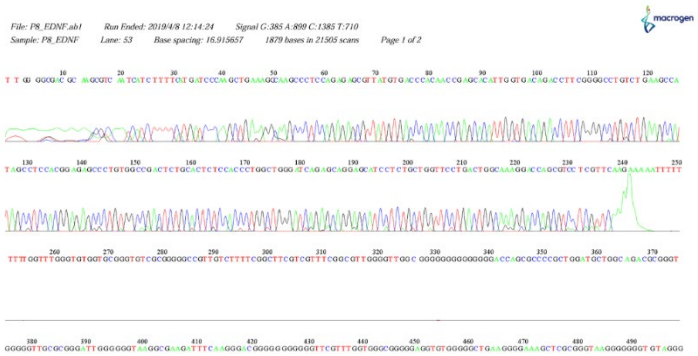
g. Hasil *Sequencing* Sampel 7



Gambar 2.10 Hasil *Sequencing* Sampel 7

Pada sampel 7 menunjukkan puncak tunggal basa G pada posisi polimorfisme gen EDN1 rs5370 (kodon 198). Hal ini menandakan bahwa sampel memiliki genotipe GG (homozygot wild-type) dengan kodon AAG, yang mengkode asam amino Lisin (Lys) pada posisi ke-198 protein endotelin-1.

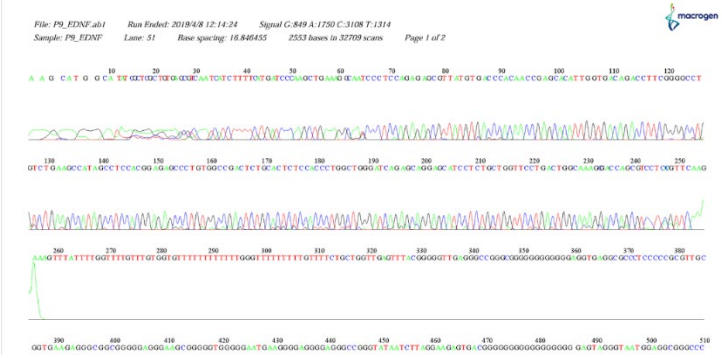
h. Hasil *Sequencing* Sampel 8



Gambar 2.11 Hasil *Sequencing* Sampel 8

Pada sampel 8 menunjukkan puncak tunggal basa G pada posisi polimorfisme gen EDN1 rs5370 (kodon 198). Hal ini menandakan bahwa sampel memiliki genotipe GG (homozygot wild-type) dengan kodon AAG, yang mengkode asam amino Lisin (Lys) pada posisi ke-198 protein endotelin-1.

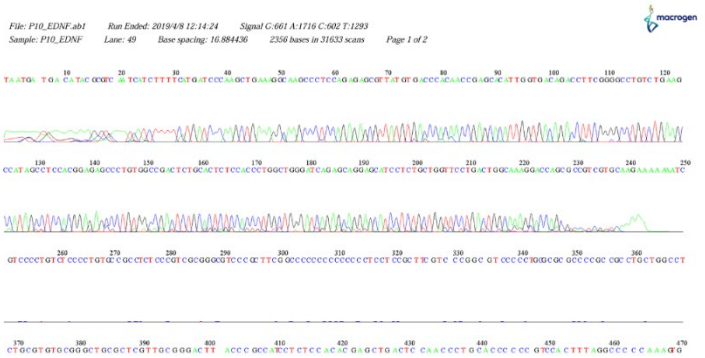
i. Hasil *Sequencing* Sampel 9



Gambar 2.12 Hasil *Sequencing* Sampel 9

Pada sampel 9 menunjukkan kualitas kromatogram dan pucak basa yang baik. Pada posisi nukleotida ke-5665 gen EDN1 (SNP rs5370) menandakan bahwa adanya subtitusi basa Guanin (G) menjadi Timin (T). Hal ini menandakan bahwa sampel memiliki genotipe TT (homozygot mutan).

j. Hasil *Sequencing* Sampel 10



Gambar 2.13 Hasil *Sequencing* Sampel 10

Pada sampel 10 menunjukkan puncak tunggal basa G pada posisi polimorfisme gen EDN1 rs5370 (kodon 198). Hal ini menandakan bahwa sampel memiliki genotipe GG (homozygot wild-type) dengan kodon AAG, yang mengkode asam amino Lisin (Lys) pada posisi ke-198 protein endotelin-1.

Tabel 4.2 Hasil Analisis Gen EDN1 rs5370 Menggunakan *Sequencing*

No.	Nama	Hasil PCR Gen EDN1 rs5370	Hasil Sequencing	Perubahan Nukleotida
1	P1	262 bp	Mutation	Non Sence Mutation
2	P6	262 bp	Mutation	Non Sence Mutation
3	P9	262 bp	Mutation	G5665T

Sumber : Analisis *Sequencing,* 2025.

Pada tabel 4.2 tentang hasil pemeriksaan Gen EDN1 rs5370 pada sampel darah pasien penderita Diabetes Melitus komplikasi Kardiovaskuler di RS Stella Maris Kota Makassar menggunakan metode PCR dan dilanjutkan dengan *Sequencing*, diketahui seluruh sampel menghasilkan pita PCR berukuran 262bp sesuai target amplifikasi. Berdasarkan hasil *Sequencing,* terdapat sebanyak 3 sampel (P1, P6, dan P9) menunjukkan bahwa adanya mutasi, pada kode sampel P1 dan P6 masing – masing berupa *non sence mutation* artinya ialah terjadi perubahan satu nukleotida tetapi tidak disertai dengan perubahan asam amino, serta terjadi perubahan basa G menjadi T pada posisi nukleotida 5665 (G5665T) pada kode sampel P9. Sementara itu, 7 sampel lainnya tidak menunjukkan perubahan nukleotida dan dikategorikan sebagai normal.

B. Pembahasan

Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi polimorfisme gen EDN1 rs5370 pada pasien Diabetes Melitus dengan komplikasi Kardiovaskuler. Berdasarkan tujuan tersebut, maka dilakukan pemeriksaan menggunakan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dengan target pita berukuran 262bp kemudian dilanjutkan dengan *Sequencing* untuk menentukan urutan basa dan mengetahui jenis alel yang terdapat pada sampel.

Penelitian ini dilaksanan pada bulan Juni – Juli 2025 di Laboratorium Biologi Molekuler Hasanuddin *University Medical Research Center* (*HUMRC*). Sampel yang digunakan merupakan sampel darah pasien penderita Diabetes Melitus Komplikasi Jantung. Metode PCR dipilih karena mampu mengamplifikasi spesifik pada segmen DNA target sehingga fragmen DNA yang dihasilkan memiliki ukuran yang sesuai (262 bp) dan metode *Sequencing* dilakukan untuk membaca langsung urutan basa pada fragmen DNA, sehingga dapat diketahui dengan tepat jenis alel atau mutasi yang ada, seperti perubahan basa (substitusi nukleotida) atau *non sence mutation.*

Pada faktor usia didapatkan usia yang rentan mengalami diabetes 40-60 tahun, hal ini sejalan dengan penelitian dari (Arenia, dkk., 2023) usia diatas 40 tahun ialah risiko tinggi terkena Diabetes Melitus karena seiring bertambahnya usia maka jumlah sel β yang mampu memproduksi insulin semakin berkurang.

Pada jenis kelamin pria memiliki risiko lebih besar mengalami Diabetes Melitus dibandingkan perempuan, dengan tingkat komplikasi yang juga lebih tinggi. Kondisi ini salah satunya disebabkan oleh rendahnya kadar testosteron

pada pria yang berpengaruh terhadap penurunan sensitivitas insulin. Hal ini sejalan dengan penelitian (Rohmatulloh, dkk., 2024) pada perempuan, hormon estrogen terutama sebelum menopause dapat melindungi fungsi sel β pankreas sehingga produksi insulin tetap optimal.

Karakteristik lama Diabetes berdasarkan teori yang tidak mendapatkan penanganan tepat berpotensi menimbulkan berbagai komplikasi. Pada Diabetes Melitus tipe 2, komplikasi dapat muncul akibat tingginya kadar glukosa darah, sehingga dampak jangka panjangnya dapat memengaruhi sistem kardiovaskular. Hal ini sejalan dengan penelitian (Santos, dkk., 2023) lama menderita Diabetes tipe 2 meningkatkan risiko komplikasi, baik akut maupun kronis. Risiko ini juga dipengaruhi oleh kepatuhan pengobatan dan tingkat keparahan penyakit, namun penerapan pola hidup sehat dapat menjaga kualitas hidup serta mencegah atau menunda komplikasi jangka panjang.

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, ditunjukkan pada gambar 4.2 bahwa dari 10 sampel serum yang dideteksi didapatkan hasil yaitu terdapat 2 sampel yang terjadi perubahan satu nukleotida namun tidak disertai dengan perubahan asam amino, adapun 1 sampel terjadi mutasi disertai dengan perubahan basa G menjadi T, sedangkan 7 sampel lainnya tidak terjadi perubahan mutasi atau disebut dengan normal. Hasil tersebut yang didasari oleh beberapa faktor.

Gen EDN1 berfungsi menghasilkan endotelin-1, yaitu peptida yang menyebabkan penyempitan pembuluh darah (vasokonstriksi). Endotelin-1 diproduksi oleh sel endotel yang melapisi pembuluh darah dan berperan dalam

mengatur lebar pembuluh darah, tekanan darah, serta pertumbuhan sel otot polos. Jika kadarnya meningkat, pembuluh darah akan menyempit sehingga aliran darah berkurang, yang pada akhirnya dapat memicu kerusakan pada pembuluh darah (Maslat, dkk., 2024).

Hubungan antara endotelin-1 pada penderita Diabetes Melitus komplikasi Kardiovaskuler terutama yang sudah lama atau tidak terkontrol seperti hiperglikemia kronis dapat menyebabkan merusak endotel pembuluh darah sehingga sel endotel yang rusak dapat memproduksi endotelin-1 lebih banyak (Rizk, dkk., 2021).

Polimorfisme (variasi genetik) pada EDN1 dapat menyebabkan Overekspresi Endtoelin-1 dan sensitivitas pembuluh darah terhadap endotelin-1 meningkat mengakibatkan vasokontriksi meningkat yang dimana aliran darah ke jantung, otak, dan ginjal akan terganggu (Palmo et al., 2022).

Pengingkatan tekanan darah dapat memperberat kerusakan jantung dan ginjal, mempercepat aterosklerosis yaitu akan terbentuk lebih cepat timbunan plak pada pembuluh darah, serta risiko komplikasi kardiovaskular meningkat seperti penyakit jantung koroner, stroke, gagal jantung, dan gagal ginjal (Palmo, dkk., 2022).

Faktor risiko yang mempengaruhi terjadinya mutasi pada penderita Diabetes komplikasi Kardiovaskuler dipengaruhi oleh faktor genetik dan metabolisme. Mutasi G→T muncul karena oksidasi guanin menjadi 8-oxoguanine, yang saat replikasi sering berubah menjadi substitusi G→T. Pada

diabetes tipe 2, kondisi hiperglikemia dan penumpukan AGEs meningkatkan *Reactive Oxygen Species* (ROS), sehingga memperbesar kerusakan DNA dan peluang terjadinya mutasi (Azizah, dkk.., 2024).

Non Sence Mutation merupakan salah satu bentuk mutasi titik yang menyebabkan perubahan kodon asam amino menjadi kodon terminasi, sehingga proses translasi terhenti. Akibatnya, protein yang terbentuk lebih pendek (*truncated protein*) dan umumnya kehilangan fungsi biologisnya (Lazurova, dkk., 2022).

Apabila peristiwa ini terjadi pada gen EDN1, maka sintesis protein endotelin-1 dapat terganggu, yang berkaitan pada perubahan mekanisme vasokonstriksi. Hal ini berpotensi meningkatkan kerentanan terhadap komplikasi kardiovaskuler pada pasien dengan diabetes melitus (Azizah, dkk., 2024).

Hasil *Sequencing* sampel 1 dan sampel 6 mengindikasikan bahwa mutasi yang terjadi merupakan *non sence mutation*. Mutasi ini terjadi karena sifat degenerasi kode genetik, di mana satu asam amino dapat dikode oleh lebih dari satu kodon. Meskipun terdapat perubahan pada tingkat DNA, protein endotelin-1 yang dihasilkan tetap memiliki urutan asam amino yang sama sehingga struktur dan fungsi proteinnya tidak mengalami perubahan signifikan.

Hasil *Sequencing* sampel 2, 3, 4, 5, 7, 8, dan 10 tidak ditemukannya mutasi, mengindikasikan bahwa protein endotelin-1 tetap terbentuk secara normal tanpa perubahan struktur maupun fungsi biologisnya. Meskipun normal,

keberadaan ET-1 tetap berkontribusi dalam mekanisme komplikasi kardiovaskuler pada penderita diabetes melitus melalui peningkatan aktivitas vasokonstriksi dan stres oksidatif yang dipicu oleh hiperglikemia.

Hasil *Sequencing* sampel 9 ditemukannya mutasi, mengindikasikan bahwa terjadi perubahan basa dari Guanin (G) menjadi Timin (T) yang menghasilkan variasi Lys198Asn (K198N) pada protein endotelin-1. Perubahan ini mengakibatkan subtitusi asam amino dari lisin menjadi aspargin. Perubahan pada posisi rs5370 berpotensi mempengaruhi ekspresi maupun aktivitas protein. Beberapa penelitian melaporkan bahwa varian rs5370 dapat berhubungan dengan risiko hipertensi, komplikasi kardiovaskular, maupun stroke pada penderita Diabetes Melitus.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian pada 10 sampel darah penderita Diabetes Melitus dengan komplikasi Kardiovaskular, seluruh sampel menunjukkan pita pada target 262 bp. Analisis lanjutan menggunakan metode *Sequencing* menunjukkan bahwa 2 sampel mengalami perubahan satu nukleotida tanpa mengubah asam amino, 1 sampel mengalami mutasi dengan perubahan basa G menjadi T pada posisi nukleotida ke-5665, sedangkan 7 sampel lainnya tidak menunjukkan mutasi (normal).

B. Saran

Pada penelitian selanjutnya agar dapat memperbanyak sampel dan penggunaan metode lain seperti *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP), *Allele-Specific* PCR (AS-PCR), atau *Real-Time* (qPCR) seperti *TaqMan* SNP *Genotyping Assay* untuk mendeteksi mutasi tertentu secara cepat dan kuantitatif, serta memberikan kesempatan dalam mengidentifikasi pasien dengan risiko tinggi dan dalam pengembangan biomarker genetik.

DAFTAR PUSTAKA

Ade, L., Ningtyas, W., & Sukawana, W. (2024). Kosala. *Jurnal Ilmu Kesehatan*, *12*(1), 7–14.

Azizah, M. I., Mulyani, R., Hartati, Y. W., & Maksum, I. P. (2024). Review: Mutasi pada DNA Mitokondria dan Pengaruhnya terhadap Diabetes Melitus Tipe 2 dan Kompleks Forforilasi Oksidatif. *Chimica et Natura Acta*, *12*(2), 128–137. https://doi.org/10.24198/cna.v12.n2.49970

Azizah, U. N., Wurjanto, M. A., Kusariana, N., & Susanto, H. S. (2022). Hubungan Kualitas Tidur dengan Kontrol Glikemik pada Penderita Diabetes Melitus : Systematic Review. *Jurnal Epidemiologi Kesehatan Komunitas*, *7*(1), 411–422. https://doi.org/10.14710/jekk.v7i1.13310

Banday, M. Z., Sameer, A. S., & Nissar, S. (2020a). Pathophysiology of diabetes: An overview. *Avicenna Journal of Medicine*, *10*(04), 174–188. https://doi.org/10.4103/ajm.ajm_53_20

Banday, M. Z., Sameer, A. S., & Nissar, S. (2020b). *Patofisiologi diabetes : Gambaran umum*. 174–188. https://doi.org/10.4103/ajm.ajm

Care, D., & Suppl, S. S. (2021). 2. Classification and diagnosis of diabetes: Standards of medical care in diabetes-2021. *Diabetes Care*, *44*(January), S15–S33. https://doi.org/10.2337/dc21-S002

Christanti, J., Hardimarta, F. P., & Setyadi, A. (2023). Status Merokok Mempengaruhi Molekul Adhesi Sel Vaskular-1 Pada Perokok Pria Dengan Penyakit Kardiovaskular. *Jurnal Pranata Biomedika*, *2*(1), 80–89. https://doi.org/10.24167/jpb.v2i1.10137

Dubovyk, Y. I., Oleshko, T. B., Harbuzova, V. Y., & Ataman, A. V. (2018). Positive association between EDN1 rs5370 (Lys198Asn) polymorphism and large artery stroke in a ukrainian population. *Disease Markers*, *2018*. https://doi.org/10.1155/2018/1695782

Edwina, D. A., Manaf, A., & Efrida, E. (2015). 102 Jurnal Kesehatan Andalas. 2015; 4(1) Pola Komplikasi Kronis Penderita Diabetes Melitus Tipe 2 Rawat Inap di Bagian Penyakit Dalam RS. Dr. M. Djamil Padang Januari 2011 - Desember 2012. *Jurnal Kesehatan Andalas*, *4*(1), 102–106. https://doi.org/10.25077/jka.v4i1.207

Hampe, N., Wolterink, J. M., van Velzen, S. G. M., Leiner, T., & Išgum, I. (2019). Machine Learning for Assessment of Coronary Artery Disease in Cardiac CT: A Survey. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, *6*(November), 1–8. https://doi.org/10.3389/fcvm.2019.00172

Hardianto, D. (2021). Telaah Komprehensif Diabetes Melitus: Klasifikasi, Gejala, Diagnosis, Pencegahan, Dan Pengobatan. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia (JBBI)*, *7*(2), 304–317. https://doi.org/10.29122/jbbi.v7i2.4209

Irfan, I., & Israfil, I. (2020). Faktor Risiko Kejadian Komplikasi Kardiovaskuler pada Pasien Diabetes Melitus (DM) Tipe 2. *Jurnal Persatuan Perawat Nasional Indonesia (JPPNI)*, *4*(3), 162. https://doi.org/10.32419/jppni.v4i3.189

Ismail. (2023). Faktor Yang Berkontribusi Terhadap Kejadian Diabetes Mellitus Pada Usia Produktif. *Jurnal Kesehatan*, *11*(II), 113–123.

Jannah, M. (2023). Optimalisasi Kondisi PCR Untuk Amplifikasi Sekuen Gen HBB. *Oryza (Jurnal Pendidikan Biologi)*, *12*(1), 36–42. https://doi.org/10.33627/oz.v12i1.1057

Kurniatmaja, E. R., Sinorita, H., & Budi, L. (2017). The Difference Plasma Levels of Endotelin-1 in Type 2 Diabetes Mellitus Women with and without Hypertension. *Acta Interna: The Journal of Internal Medicine*, *5*(1), 9–16.

Kurniawan, A., & Yanni, M. (2020). Pemeriksaan Fungsi Endotel Pada Penyakit Kardiovaskular. *Human Care Journal*, *5*(3), 638. https://doi.org/10.32883/hcj.v5i3.817

Lazurova, Z., Habalova, L., Mitro, P., Dalam, K. P., Kedokteran, F., Pj, U.,

Pertama, D. K., Kedokteran, F., Pj, U., Slowakia, R., Medis, D. B., Kedokteran, F., & Pj, U. (2022). *Hubungan Polimorfisme Gen Endotelin-1 dan Reseptor Endotelin A dengan Sinkop Vasovagal*. *9973*, 93–101.

Leon, B. M. (2015). Diabetes and cardiovascular disease: Epidemiology, biological mechanisms, treatment recommendations and future research. *World Journal of Diabetes*, *6*(13), 1246. https://doi.org/10.4239/wjd.v6.i13.1246

Lestari, Zulkarnain, Sijid, & Aisyah, S. (2021). Diabetes Melitus: Review Etiologi, Patofisiologi, Gejala, Penyebab, Cara Pemeriksaan, Cara Pengobatan dan Cara Pencegahan. *UIN Alauddin Makassar*, *1*(2), 237–241. http://journal.uin-alauddin.ac.id/index.php/psb

Majid. (2022). Penyakit jantung koroner: patofisiologi, pencegahan, dan pengobatan terkini. *Pidato Pengukuhan Jabatan Guru Besar Tetap*, *1*(1), 1–53. http://repository.usu.ac.id/bitstream/123456789/705/1/08E00124.pdf

Makalew. (2021). Gambaran Tingkat Stres pada Penderita Diabetes Melitus Tipe 2 : Literatur Review. *Jurnal Keperawatan*, *9*(1), 27–37.

Maslat, A. O., Al-Mahmood, O. M., Al Khawaja, N. M., & Al-Shdefat, R. (2024). Association of Genetic polymorphisms of EDN1 gene and Endothelin-1 level in patients with type 2 diabetes mellitus in the Jordanian population. *Heliyon*, *10*(1), e23676. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e23676

Mawaddah, R., Lestari, P., & Karima, R. (2022). Optimasi Metode Sanger Sequencing Untuk Deteksi Polimorfisme Gen Mthfr (C677T). *Prosiding Seminar Nasional Poltekkes Jakarta III*, *13*(Cc), 150–159.

Nepal, G., Ojha, R., Dulal, H. P., & Yadav, B. K. (2019). Association between Lys198Asn polymorphism of endothelin-1 gene and ischemic stroke: A meta-analysis. *Brain and Behavior*, *9*(10), 1–10. https://doi.org/10.1002/brb3.1424

Nurhayani, Y. (2022). Literature Review : Pengaruh Senam Kaki Terhadap Penurunan Kadar Gula Darah Pada Pasien Diabetes Melitus. *Journal of Health Research Science*, *2*(01), 9–20. https://doi.org/10.34305/jhrs.v2i1.486

Palmo, T., Abbasi, B. A., Chanana, N., Sharma, K., Faruq, M., Thinlas, T., Abdin, M. Z., & Pasha, Q. (2022). The EDN1 Missense Variant rs5370G > T Regulates Adaptation and Maladaptation under Hypobaric Hypoxia. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *19*(18). https://doi.org/10.3390/ijerph191811174

Pintaningrum, Y., Rahmat, B., Ermawan, R., Indrayana, Y., Putra, A. A. S. M. M., & Fakultas. (2020). Penatalaksanaan Penyakit Kardiovaskular Dalam Praktek Sehari-Hari Untuk Dokter Umum. *Andrew's Disease of the Skin Clinical Dermatology.*, *3*(November), 47–54.

Prasetyo, D. H., Nasution, S. A., Alwi, I., & Abdullah, M. (2021). Korelasi Kadar Asam Urat Serum dengan Keparahan Stenosis Arteri Koroner Pasien Sindrom Koroner Akut: Studi Meta-Analisis. *Jurnal Penyakit Dalam Indonesia*, *8*(1), 10. https://doi.org/10.7454/jpdi.v8i1.459

Resti Arenia, Tusy Triwahyuni, Firhat Esfandiari, F. R. N. (2023). Hubungan Antara Usia, Jenis Kelamin, dan Tingkat Pendidikan dengan Kejadian Diabetes Melitus di Klinik Mardi Waluyo Lampung Tengah. *Journal of Economics/ Zeitschrift Fur Nationalokonomie*, *139*(3), 235–260. https://doi.org/10.1007/s00712-023-00827-w

Rif'at, I. D., Hasneli N, Y., & Indriati, G. (2023). Gambaran Komplikasi Diabetes Melitus Pada Penderita Diabetes Melitus. *Jurnal Keperawatan Profesional*, *11*(1), 52–69. https://doi.org/10.33650/jkp.v11i1.5540

Rizk, H., Hammad, A., El-Said, A., & Wahba, Y. (2021a). Endothelin-1 rs5370 gene polymorphism in primary nephrotic syndrome: A case-control study. *Anales de Pediatria*, *95*(6), 406–412. https://doi.org/10.1016/j.anpedi.2020.04.036

Rizk, H., Hammad, A., El-Said, A., & Wahba, Y. (2021b). Endothelin-1 RS5370 gene polymorphism in primary nephrotic syndrome: A case-control study. *Anales de Pediatría (English Edition)*, *95*(6), 406–412. https://doi.org/10.1016/j.anpede.2020.12.001

Rohmatulloh, V. R., Pardjianto, B., & Kinasih, L. S. (2024). Hubungan Usia Dan Jenis Kelamin Terhadap AngkaKejadian Penderita Diabetes Melitus Tipe 2 Di RSUD Karsa Husada Kota Batu. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*, *8*(1), 2528–2543.

Santos, D. N. Dos, Zainal, S., & Arna Abrar, E. (2023). Literatur Review Lama Menderita Diabetes Melitus dengan Kualitas Hidup Pasien Diabetes Melitus Tipe 2. *JIMPK: Jurnal Ilmiah Mahasiswa & Penelitian Keperawatan*, *3*(4), 10–18.

Setyawati, R., & Zubaidah, S. (2021). Optimasi Konsentrasi Primer dan Suhu Annealing dalam Mendeteksi Gen Leptin pada Sapi Peranakan Ongole (PO) Menggunakan Polymerase Chain Reaction (PCR). *Indonesian Journal of Laboratory*, *4*(1), 36. https://doi.org/10.22146/ijl.v4i1.65550

Simanjuntak, A. D., P, I. H., Siringo-ringo, M., & Sinaga, A. (2024). *Gambaran Karakteristik Penyakit Demografi Diabetesmelitus pada Pasien di Rumah Sakit Santa Elisabeth Medan Tahun 2024 Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Santa Elisabeth Medan , Indonesia Diabetes Melitus adalah suatu penyakit Kementerian Kesehatan Republik Ind*. *2*(4).

Simbolon Yopi Marianti. (2021). Hubungan Kepatuhan Diet Dengan Kadar Gula Darah Pada PAsien Diabetes Mellitus. In *karya tulis ilmiah* (Vol. 75, Issue 17).

Torawoba et al. (2021). Diabetes Melitus Dan Penyakit Jantung Koroner Pada Pasien Rawat Jalan Rumah Sakit. *Kesmas*, *10*(4), 87–92.

Tousoulis, D., Toli, E., Miliou, A., Papageorgiou, N., Antoniades, C., Kampoli, A. M., Hatzis, G., Kormali, L., Metaxa, S., Papaoikonomou, S., Tsiamis, E., & Stefanadis, C. (2013). The impact of G5665T polymorphismof endothelin-1 gene, on endothelin-1 levels and left ventricular function in ischemic heart disease. *International Journal of Cardiology*, *168*(2), 1568–1569. https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2013.01.188

Valentine, P. F., & Tina, R. (2020). Pengaruh Polimorfisme CYP2C9*2 dan

CYP2C9*3 terhadap Resiko Pendarahan Saluran Gastrointestinal Terapi NSAID. *Farmaka Suplemen*, *14*(1), 1–15.

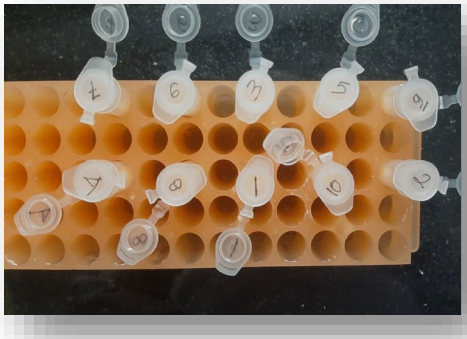
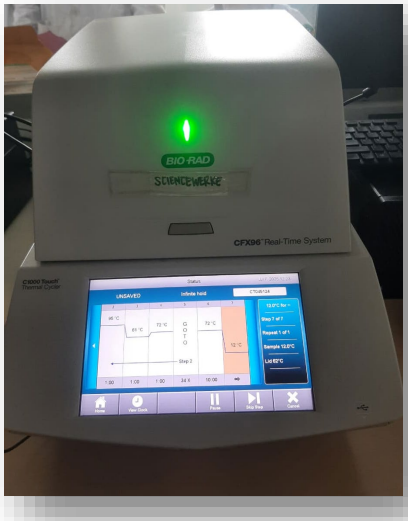
LAMPIRAN

Lampiran 1. Dokumentasi Ekstraksi DNA

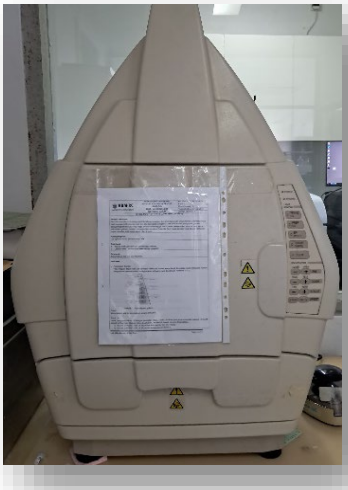
	
Proses Pemipetan Sampel dan Penambahan Proteinase K	**Diinkubasi pada suhu 60ºC selama 5 menit**
	
Ditambahkan Buffer BSG dan Ethanol Absolute (96%) lalu Vortex	**Proses Sentrifuge**

 **Penambahan Buffer Washing (W1) dan Wash Buffer**	 **Penambahan Elution Buffer**

Lampiran 2. Dokumentasi Proses Amplifikasi

<table>
<tr>
<td>
Proses PCR Mix</td>
<td>
Vortex Hasil Mix PCR</td>
</tr>
<tr>
<td>
Menambahkan Hasil Ekstraksi DNA</td>
<td>
Proses PCR</td>
</tr>
</table>

Lampiran 3. Dokumentasi Elektroforesis dan Pembacaan pada Geldoc

 **Proses Elektroforesis**	 **Pembacaan di Geldoc**

Lampiran 4. Data Hasil Karakteristik Responden

Kode Sampel	Karakteristik Subjek Penelitian		
	Jenis Kelamin	**Usia**	**Lama Menderita Diabetes Melitus**
1	Perempuan	86 Tahun	15 Tahun
2	Laki – laki	72 Tahun	17 Tahun
3	Laki – laki	60 Tahun	5 Tahun
4	Perempuan	51 Tahun	2 Tahun
5	Laki – laki	56 Tahun	12 Tahun
6	Laki – laki	80 Tahun	11 Tahun
7	Laki – laki	64 Tahun	6 Tahun
8	Perempuan	76 Tahun	5 Tahun
9	Laki – laki	50 Tahun	7 Tahun
10	Laki – laki	67 Tahun	12 Tahun

Lampiran 5. Surat Izin Penelitian

PEMERINTAH PROVINSI SULAWESI SELATAN
DINAS PENANAMAN MODAL DAN PELAYANAN TERPADU SATU PINTU
Jl.Bougenville No.5 Telp. (0411) 441077 Fax. (0411) 448936
Website : http://simap-new.sulselprov.go.id Email : ptsp@sulselprov.go.id
Makassar 90231

Nomor : **7582/S.01/PTSP/2025**
Lampiran : -
Perihal : **Izin penelitian**

Kepada Yth.
Direktur HUM-RC RSP Univ. Hasanuddin Makassar

di-
Tempat

Berdasarkan surat Kepala LPPM Universitas Megarezky, Makassar Nomor : 114/07.091056/IV/2025 tanggal 15 April 2025 perihal tersebut diatas, mahasiswa/peneliti dibawah ini:

N a m a	:	**SHOFI SALSABILA NAWAWI**
Nomor Pokok	:	B1D121109
Program Studi	:	D-IV Teknologi Laboratorium Medis
Pekerjaan/Lembaga	:	Mahasiswa (D4)
Alamat	:	Jl. Antang Raya No. 43, Makassar

ptsp
PROVINSI SULAWESI SELATAN

Bermaksud untuk melakukan penelitian di daerah/kantor saudara dalam rangka menyusun KARYA TULIS, dengan judul :

" DETEKSI POLIMORFISME GEN EDN1 RS5370 PADA PASIEN DIABETES MELITUS DENGAN KOMPLIKASI KARDIOVASKULER MENGGUNAKAN TEKNIK POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR) "

Yang akan dilaksanakan dari : Tgl. ***16 April s/d 31 Mei 2025***

Sehubungan dengan hal tersebut diatas, pada prinsipnya kami ***menyetujui*** kegiatan dimaksud dengan ketentuan yang tertera di belakang surat izin penelitian.

Demikian Surat Keterangan ini diberikan agar dipergunakan sebagaimana mestinya.

Diterbitkan di Makassar
Pada Tanggal 16 April 2025

KEPALA DINAS PENANAMAN MODAL DAN PELAYANAN TERPADU SATU PINTU PROVINSI SULAWESI SELATAN

ASRUL SANI, S.H., M.Si.
Pangkat : PEMBINA TINGKAT I
Nip : 19750321 200312 1 008

Tembusan Yth
1. Kepala LPPM Universitas Megarezky, Makassar di Makassar;
2. *Pertinggal.*

Lampiran 6. Kode Etik

KOMITE ETIK PENELITIAN KESEHATAN
POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES MAKASSAR
Jalan Wijaya Kusuma Raya No. 46, Rappoccini, Makassar
E-mail: kepkpolkesmas@poltekkes-mks.ac.id

KETERANGAN LAYAK ETIK
DESCRIPTION OF ETHICAL EXEMPTION
"ETHICAL EXEMPTION"
No.: 0542/M/KEPK-PTKMS/IV/2025

Protokol penelitian yang diusulkan oleh :
The research protocol proposed by

Peneliti Utama : **Shofi Salsabila Nawawi**
Principal in Investigator

Nama Institusi : **Universitas Megarezky Makassar**
Name of the Institution

Dengan Judul:
Title

"Deteksi Polimorfisme Gen EDN1 rs5370 pada Penderita Diabetes Melitus dengan Komplikasi Kardiovaskuler menggunakan Teknik Polymerase Chain Reaction (PCR) Sequencing"

"Detection of EDN1 rs5370 Gene Polymorphism in Diabetes Mellitus Patients with Cardiovascular Complications Using Polymerase Chain Reaction (PCR) Sequencing Technique"

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

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

Pernyataan Layak Etik ini berlaku selama kurun waktu tanggal 10 April 2025 sampai dengan tanggal 10 April 2026.

Declaration of ethics applies during the period April 8, 2025 until April 8, 2026.

April 10, 2025
Professor and Chairperson,

Hj. Santi Sinala, S.Si, M.Si, Apt
Ketua KEPK Poltekkes Makassar

Lampiran 7. Surat Pengantar Penelitian HUM-RC

HUM-RC	ADMINISTRASI	FORMULIR 1
	Nomor : 111/04/FR1/2025	Tanggal : 29 April 2025
SURAT PENGANTAR PENELITIAN		

Kepada Yth.
Pembimbing/pendamping,
Bapak Zainul Muttaqin,

Dengan ini menerangkan bahwa peneliti/mahasiswa berikut ini :

Nama	: Shofi Salsabila Nawawi
NIM	: B1D121109
Institusi	: DIV Teknologi Laboratorium Medis Universitas Megarezky

Akan melakukan pengambilan data/ analisa bahan hayati :

Pada tanggal	: 29 April 2025 s/d Selesai
Jumlah subjek	: ± 10 sampel
Jenis data	: Data Primer

Untuk penelitian dengan judul :
"Deteksi Polimorfisme Gen EDN1 Rs5370 Pada Penderita Diabetes Melitus Dengan Komplikasi Kardiovaskuler Menggunakan Teknik Polymerase Chain Reaction (PCR)"

Harap dilakukan pembimbingan dan pendampingan seperlunya. Terima Kasih.

Staf Administrasi,
HUM-RC
science for a better future

Catatan : Untuk *Guide Services*, Proses pengerjaan dilakukan oleh peneliti, Pendamping hanya mendampingi.

Formulir surat pengantar penelitian Hal. 1 dari 1

Lampiran 8. Surat Keterangan Selesai Penelitian HUM-RC

HUM-RC	ADMINISTRASI	FORMULIR 2
	Nomor : 396/07/FR2/2025	Tanggal : 28 Juli 2025
SURAT KETERANGAN SELESAI PENGAMBILAN DATA/ ANALISA BAHAN HAYATI		

Dengan hormat,

Dengan ini menerangkan bahwa peneliti/mahasiswa berikut ini :

Nama : Shofi Salsabila Nawawi

NIM : B1D121109

Institusi : DIV Teknologi Laboratorium Medis Universitas Megarezky

Judul Penelitian : **Deteksi Polimorfisme Gen EDN1 Rs5370 Pada Penderita Diabetes Melitus Dengan Komplikasi Kardiovaskuler Menggunakan Teknik Polymerase Chain Reaction (PCR).**

Telah selesai melakukan pengambilan data/ analisa bahan hayati :

Pada tanggal : 27 Juli 2025

Jumlah subjek : ± 10 sampel

Jenis data : Data Primer

Dengan staf pendamping/pembimbing :

Nama : Zainul Muttaqin, M.BioMed

Konsultan : -

Surat keterangan ini juga merupakan penjelasan bahwa peneliti/mahasiswa diatas tidak mempunyai sangkutan lagi pada unit/laboratorium kami.

Demikian surat ini dibuat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

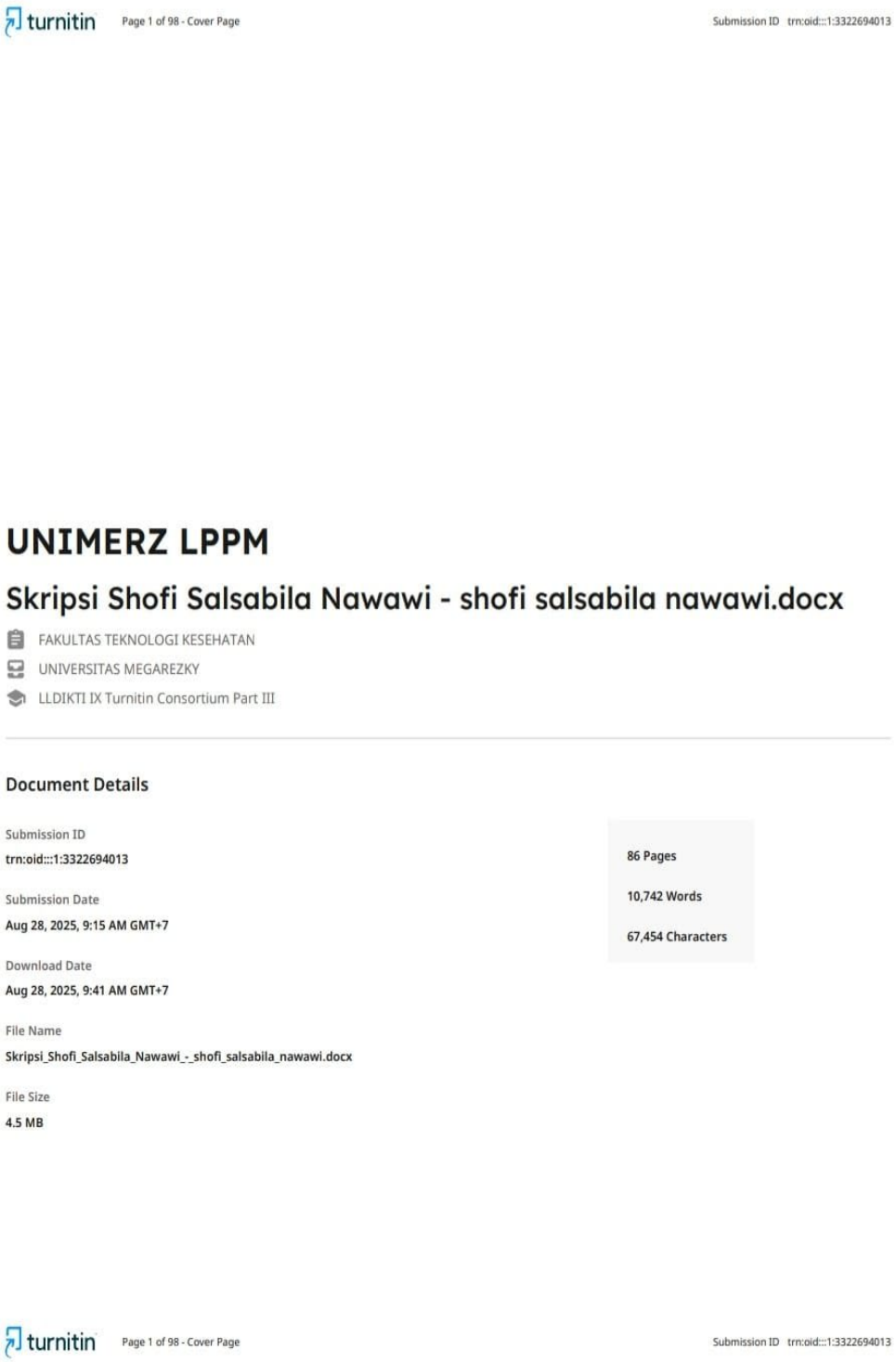
Pendamping/Pembimbing

Zainul Muttaqin, M.BioMed
NIP

Mengetahui,
Kepala Laboratorium,

dr. Rusdina Bte Ladju, Ph.D
NIP 198108302012122002

Lampiran 9. ***Plagiarisme Scan Report***



turnitin Page 1 of 98 - Cover Page Submission ID trn:oid:::1:3322694013

UNIMERZ LPPM

Skripsi Shofi Salsabila Nawawi - shofi salsabila nawawi.docx

FAKULTAS TEKNOLOGI KESEHATAN

UNIVERSITAS MEGAREZKY

LLDIKTI IX Turnitin Consortium Part III

Document Details

Submission ID
trn:oid:::1:3322694013

Submission Date
Aug 28, 2025, 9:15 AM GMT+7

Download Date
Aug 28, 2025, 9:41 AM GMT+7

File Name
Skripsi_Shofi_Salsabila_Nawawi_-_shofi_salsabila_nawawi.docx

File Size
4.5 MB

86 Pages

10,742 Words

67,454 Characters

turnitin Page 1 of 98 - Cover Page Submission ID trn:oid:::1:3322694013

28% Overall Similarity

The combined total of all matches, including overlapping sources, for each database.

Filtered from the Report

- Bibliography
- Quoted Text

Exclusions

- 1 Excluded Source

Top Sources

26% Internet sources
12% Publications
14% Submitted works (Student Papers)

Integrity Flags

1 Integrity Flag for Review

Replaced Characters
64 suspect characters on 32 pages
Letters are swapped with similar characters from another alphabet.

Our system's algorithms look deeply at a document for any inconsistencies that would set it apart from a normal submission. If we notice something strange, we flag it for you to review.

A Flag is not necessarily an indicator of a problem. However, we'd recommend you focus your attention there for further review.

Lampiran 10. Pengisian Kuisioner

LAMPIRAN

LEMBAR PERSETUJUAN MENJADI RESPONDEN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : RISMAWATY
Jenis Kelamin : PEREMPUAN.
Usia : 51 TAHUN
Alamat : JL. VETRAN UTARA LR 40 NO 4.
Ada Penyakit Lain : –

Setelah mempelajari dan mendapatkan penjelasan yang sejelas-jelasnya mengenai penelitian yang berjudul "DETEKSI POLIMORFISME GEN EDN1 RS5370 PADA PASIEN DIABETES MELITUS DENGAN KOMPLIKASI KARDIOVASKULER MENGGUNAKAN TEKNIK *POLYMERASE CHAIN REACTION* (PCR) *SEQUENCING*". Dengan ini saya menyatakan bahwa saya bersedia dengan sukarela menjadi subjek penelitian pada penelitian ini. Jika sewaktu-waktu ingin berhenti, saya berhak untuk tidak melanjutkan keikutsertaan saya terhadap penelitian ini tanpa adanya sanksi apapun. Demikian persetujuan ini saya berikan agar dapat digunakan sebagamana mestinya.

Peneliti

SHOFI SALSABILA NAWAWI

Makassar, 2025

Responden

LAMPIRAN

LEMBAR KUISIONER

Judul penelitian : Deteksi Polimorfisme Gen EDN1 rs5370 Pada Pasien Diabetes Melitus dengan Komplikasi Kardiovaskuler menggunakan Teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) *Sequencing*

Peneliti : Shofi Salsabila Nawawi

Inisial Nama Responden : RISMAWATY .

Usia Responden : 51 . TAHUN

Tinggi/Berat Badan : 150 / 70

Lama Menderita Diabetes : ± 2 TAHUN

A. Kuisioner Data Demografi

Petunjuk : Jawablah pertanyaan ini dengan memberikan tanda checklist (✓) pada salah satu jawaban yang menurut pendapat Bapak/Ibu benar

1. Jenis Kelamin

   ☐ Laki-Laki ☑ Perempuan

2. Apakah pasien merasakan nyeri pada dada?

   ☑ Ya ☐ Tidak

3. Apakah pasien sering merasakan sesak napas ?

   ☐ Ya ☑ Tidak

4. Apakah pasien memiliki pembengkakan pada kaki atau pergelangan kaki?

   ☐ Ya ☑ Tidak

5. Apakah pasien merasakan letih ketika melakukan aktivitas yang ringan ?

   ☐ Ya ☑ Tidak

6. Apakah pasien rutin kontrol gula darah?

   ☑ Ya ☐ Tidak

7. Apakah pasien bersedia memebrikan sampel darah untuk pemeriksaan genetik EDN1 rs5370?

   ☑ Ya ☐ Tidak