

DETEKSI GEN *SLC30A8* PADA SAMPEL DARAH PENDERITA DIABETES MELITUS TIPE 2 DENGAN METODE *POLYMERASE CHAIN REACTION*

Dinda Helsa Auliantika¹, Didik Wahyudi^{2*}

¹Program Studi DIII Teknologi Laboratorium Medis Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional

²Program Studi DIII Teknologi Laboratorium Medis Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional

E-mail: didik.wahyudi@stikesnas.ac.id

Abstract

Background: The *SLC30A8* gene is a zinc efflux transporter associated with insulin secretion expressed by the pancreas. The *SLC30A8* gene causes abnormalities in insulin synthesis, maturation & secretion as well as abnormalities in the body's effectiveness in responding to glucose metabolism. Polymerase Chain Reaction (PCR) is a DNA amplification method that can be used to detect the presence of the *SLC30A8* gene in type 2 diabetes mellitus patients.

Methods: This study used a descriptive research method conducted at the Molecular Biology Laboratory of Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional. The sampling technique in this study used a total sampling technique on 25 type 2 diabetes mellitus patients who were members of the Prolanis Diabetes Mellitus Puskesmas Bulu Sukoharjo, Central Java. The detection of the *SLC30A8* gene went through several stages, namely DNA isolation, qualitative testing of DNA isolates, quantitative testing of DNA isolates and PCR

Results: The results showed the presence of the *SLC30A8* gene in all blood samples from type 2 diabetes mellitus patients using the PCR method. The primer used with forward primer 5'-GGACGAAAGAGTTCCCATAGCG-3' and reverse primer 5'-ATAGCAGCATGTTTTGAAGGTGGC-3' attaches specifically to chromosome 8 with a product length of 429 bp.

Conclusion: All blood samples of type 2 diabetes mellitus patients detected the *SLC30A8* gene

Keywords: Gen *SLC30A8*, diabetes mellitus tipe 2, PCR.

Abstrak

Latar Belakang: Gen *SLC30A8* merupakan transporter penghabisan seng yang berhubungan dengan sekresi insulin yang diekspresikan oleh pankreas. Gen *SLC30A8* ini menyebabkan abnormalitas sintesis, pematangan & sekresi insulin serta abnormalitas tubuh dalam menanggapi efektivitas metabolisme glukosa. *Polymerase Chain Reaction* (PCR) merupakan suatu metode perbanyak DNA yang dapat digunakan untuk mendeteksi adanya gen *SLC30A8* pada penderita diabetes melitus tipe 2.

Metode: Penelitian ini menggunakan metode penelitian deskriptif yang dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional. Teknik sampling pada penelitian ini menggunakan teknik total sampling terhadap 25 penderita diabetes melitus tipe 2 yang tergabung dalam prolanis diabetes melitus Puskesmas Bulu Sukoharjo. Deteksi gen *SLC30A8* ini melalui beberapa tahap yaitu isolasi DNA, uji kualitatif isolat DNA, uji kuantitatif isolat DNA dan PCR.

Hasil: Hasil penelitian menunjukkan adanya gen *SLC30A8* pada semua sampel darah penderita diabetes melitus tipe 2 yang dilakukan dengan metode PCR. Primer yang digunakan dengan primer forward 5'-GGACGAAAGAGTTCCCATAGCG-3' dan primer reverse 5'-ATAGCAGCATGTTTTGAAGGTGGC-3' menempel secara spesifik pada kromosom 8 dengan panjang produk 429 bp.

Kesimpulan: Seluruh sampel darah penderita diabetes melitus tipe 2 terdeteksi adanya Gen *SLC30A8*.

Kata Kunci: Gen *SLC30A8*, diabetes mellitus tipe 2, PCR.

PENDAHULUAN

Diabetes Melitus atau yang lebih dikenal dengan DM merupakan salah satu masalah kesehatan yang sampai saat ini masih menjadi perhatian dunia yang ditandai dengan peningkatan kadar gula dalam darah sebagai akibat dari gangguan sekresi insulin, kerja insulin atau keduanya (Silalahi, 2019). Diabetes melitus tipe 2 (T2DM) adalah penyakit gangguan metabolisme umum yang ditandai dengan gangguan insulin serta penurunan sensitivitas insulin. T2DM menyumbang gangguan sekresi insulin dan penurunan sensitivitas insulin, jenis ini menyumbang 90-95% dari semua kasus diabetes (Liu, *et al.*, 2018). Menurut perkiraan *International Diabetes Federation (IDF)*, 537 juta orang dewasa di seluruh dunia terkena diabetes pada tahun 2021 dan jumlah ini akan terus meningkat menjadi 643 juta pada tahun 2030 kemudian meningkat menjadi 783 juta pada tahun 2045 (IDF, 2022).

Faktor genetik dan lingkungan menjadi peran penting dalam perkembangan penyakit. Genome-wide association studies (GWAS) telah mengenali beberapa gen untuk T2DM. GWAS telah berhasil mengidentifikasi lebih dari satu juta polimorfisme nukleotida tunggal yang dapat mengatasi keterbatasan pendekatan gen (Alharbi, *et al.*, 2020). Gen pembawa zat terlarut 30, pengangkut seng, anggota 8 (SLC30A8) dikodekan untuk transporter penghabisan seng yang diekspresikan oleh pankreas, terutama dalam sel alfa, beta, dan islets pankreas (Alharbi, *et al.*, 2020). Karakterisasi seluler SLC30A8 rs13266634 mampu mengurangi aktivitas transportasi seng ZnT8 yang pada gilirannya menyebabkan abnormalitas sintesis, pematangan & sekresi insulin, menanggapi efektivitas metabolisme glukosa, dan akhirnya menyebabkan diabetes (Gupta & Vadde, 2019).

Polymerase Chain Reaction (PCR) merupakan suatu teknik perbanyak (amplifikasi) potongan DNA secara in

vitro pada daerah spesifik yang dibatasi oleh dua buah primer oligonukleotida (Lio & Sugireng, 2019). Beberapa penelitian telah dilakukan mengenai deteksi gen SLC30A8 pada penderita diabetes melitus tipe 2 oleh Alharbi, *et al.*, 2020, Khan, *et al.*, 2015. Tujuan Penelitian ini adalah melakukan deteksi gen SLC30A8 pada sampel darah penderita diabetes melitus tipe 2 menggunakan metode Polymerase Chain Reaction (PCR).

MATERI DAN METODE

Jenis penelitian dalam karya tulis ilmiah ini adalah penelitian deskriptif. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional pada bulan Februari - Maret 2023, Populasi dan sampel sasaran penelitian ini adalah sebanyak 25 penderita diabetes melitus tipe 2 di prolans diabetes melitus Puskesmas Bulu, kabupaten Sukoharjo, Jawa Tengah. Teknik sampling menggunakan total sampling, teknik pengumpulan data menggunakan data primer, yaitu dengan melakukan pengambilan darah langsung pada pasien diabetes mellitus tipe 2 dan diisolasi DNANYA kemudian pemeriksaan dilakuakn dengan metode PCR, dan hasil PCR divisualisasikan dengan elektroforesis.

Isolasi DNA, diawali dengan Preparasi Sampel, dilakukan dengan cara: Sampel darah 300 µl dimasukkan ke tabung microcentrifuge 1,5 ml. Kemudian menambahkan sebanyak 3x volume sampel RBC lysis buffer, homogenkan, inkubasi 10 menit pada suhu kamar dan sentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Kemudian menambahkan 100 µl RBC lysis buffer untuk meresuspensi pelet leukosit.

Pelisisan Sel, dilakukan penambahan penambahan 200 µl buffer GB kemudian tabung mikrocentrifuge 1,5 ml dikocok dengan kuat. inkubasi pada suhu 60°C selama minimal 10 menit untuk memastikan lisat sampel jernih. Selama inkubasi, balik tabung

setiap 3 menit. Pada saat ini, panaskan terlebih dahulu Elution Buffer yang diperlukan (200 µl per sampel) hingga 60°C.

Pengikatan DNA, 200 µl etanol absolut kedalam lisat kemudian segera campur dengan mengocok kuat-kuat selama 10 detik. Jika muncul endapan, pisahkan sebanyak mungkin dengan pipet, kemudian pasang GD column dalam Collection tube 2 ml. setelah itu pindahkan campuran (termasuk endapan apapun) kedalam GD column kemudian centrifuge pada 14.000-16.000 rpm selama 5 menit. Kemudian buang collection tube 2 ml kemudian menempatkan GD column dalam collection tube 2 ml yang baru.

Pencucian, DNA dilakukan dengan menambahkan 400 µl buffer W1 ke GD column kemudian dipusing pada kecepatan 14.000-16.000 rpm selama 30-60 detik. Flow through dibuang dan menempatkan kembali GD column kedalam collection tube 2 ml. Menambahkan 600 µl wash buffer (pastikan ditambahkan etanol) ke GD column. Kemudian sentrifugasi pada kecepatan 14.000-16.000 rpm selama 30-60 detik kemudian membuang flow through. Tempatkan kembali GD column kedalam collection tube 2 ml. setelah itu disentrifugasi kembali selama 3 menit pada 14.000-16.000 rpm untuk mengeringkan matriks column.

DNA Elution, GD column dipindah ke tabung microcentrifuge yang bersih. Kemudian menambahkan 200 µl buffer elution yang telah dipanaskan sebelumnya. TE atau air ke tengah matriks column. Setelah itu didiamkan minimal 3 menit untuk memastikan buffer elution terserap sempurna. Kemudian disentrifugasi pada 14.000-16.000 rpm selama 30 detik untuk mengelusi DNA yang dimurnikan. (Genomic DNA Mini Kit (Blood/Cultured Cell), 2022).

Uji Kualitatif Isolat DNA, dilakukan menggunakan gel agarose 1,5% dengan pelarut TBE 1x yang selanjutnya dilakukan proses elektroforesis. Pada tahap ini 5 µl isolat DNA, 3 µl loading

buffer dan 2 µl gel red dicampurkan diatas parafilm kemudian dimasukkan kedalam sumuran agarose yang berada didalam chamber elektroforesis (Qiagen, 2013). Elektroforesis dilakukan selama 30 menit dengan voltase 90 volt dan arus listrik sebesar 400 ampere (Dewi, 2018; Harahap, 2018)).

Uji Kuantitatif Isolat DNA, dilakukan dengan membuat pengenceran dari 20 µl isolat DNA ditambah dengan 2980 µl aquabidest. Selanjutnya dilakukan pembacaan absorbansi dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada λ260 nm dan λ280 nm (Handoyo & Rudiretna, 2017; Hapsari, 2012)

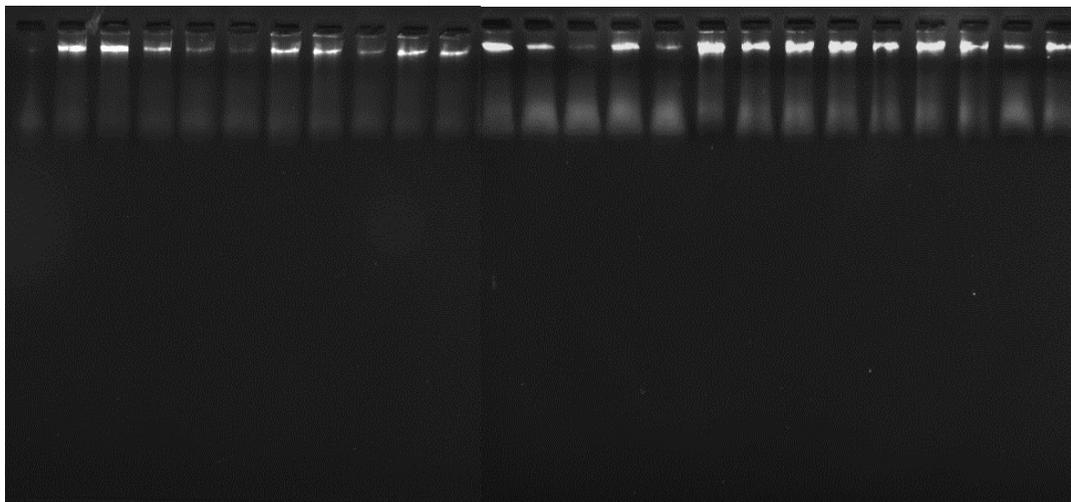
Identifikasi gen SLC30A8 dengan Polymerase Chain Reaction (PCR), dilakukan dengan menggunakan Primer forward 5'-GGACAGAAAGAGTTCCCATAGCG-3' dan Primer Reverse 5'-ATAGCAGCATGTTTGAAGGTGGC-3' dengan target 429 bp. Sebelum program PCR, dilakukan pemipetan PCR Master Mix sebanyak 12 µl, primer forward sebanyak 1 µl, primer reverse sebanyak 1 µl, nuclease Free Water sebanyak 6 µl dan DNA template sebanyak 5 µl. Tahap ini digunakan suhu predenaturasi 95°C selama 3 menit, denaturasi 95°C selama 30 detik, annealing 63°C selama 30 detik, ekstention 72°C selama 1 menit, Final ekstention 72°C selama 5 menit dan hold pada suhu 4°C dengan waktu yang tidak ditentukan.

Elektroforesis Hasil PCR, Elektroforesis Hasil PCR dilakukan dengan memasukkan 2 µl isolat PCR, 3 µl loading buffer dan 2 µl gel red yang telah dicampurkan diatas parafilm kedalam sumuran agarose yang berada pada chamber elektroforesis. Elektroforesis selama 90 menit kemudian divisualisasi menggunakan Gel Doc. Teknik analisis data pada karya tulis ilmiah ini adalah deskriptif berdasarkan tervisualisasinya gen SLC30A8 pada sampel penderita diabetes melitus tipe 2 dengan target 429 bp (NCBI, 2022).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi DNA dilakukan terhadap 25 sampel darah penderita diabetes melitus tipe 2 yang tergabung dalam prolanis diabetes melitus Puskesmas Bulu, Kabupaten Sukoharjo, Jawa Tengah. Pengerjaan isolasi DNA diperlukan sterilitas agar didapatkan isolat DNA yang murni dan minim kontaminasi.

Pada tahap isolasi DNA didapatkan isolat DNA sebanyak 200 μ l. Isolat DNA yang telah diperoleh kemudian dilakukan uji kualitatif dengan menggunakan elektroforesis. Uji kualitatif dilakukan menggunakan teknik elektroforesis gel agarosa dengan konsentrasi 1,5% pada chamber yang berisi TBE 1X dengan tegangan 80volt selama 30 menit.



Gambar 1. Hasil uji kualitatif isolate DNA dari 25 sampel darah penderita DM tipe 2

Gambar 1. yang menunjukkan hasil uji kualitas DNA dengan metode kualitatif. Secara umum, sampel isolat DNA yang digunakan dalam uji kualitatif dapat menghasilkan pita DNA. Namun, pita DNA hasil elektroforesis yang diperoleh menunjukkan variasi pita DNA yang tebal dan tipis. Pita DNA yang tipis menunjukkan konsentrasi DNA yang paling sedikit jika dibandingkan dengan sampel lainnya. Uji kuantitatif isolat DNA meliputi konsentrasi dan kemurnian DNA dengan menggunakan alat Spektrofotometer Uv-Vis pada panjang gelombang 260nm dan 280nm. Pada uji kuantitatif isolat DNA ini menggunakan pengenceran 150X dengan perbandingan jumlah isolat DNA 20 μ l dan aquabidest sebanyak 2980 μ l.

Tabel 1 didapatkan hasil konsentrasi DNA terendah adalah -23.8 pada sampel nomor 9 dan 13. Konsentrasi DNA tertinggi ditunjukkan oleh sampel nomor 2 dengan nilai 922.5. Sedangkan untuk nilai kemurnian DNA menunjukkan keseluruhan sampel yang diuji berada jauh dari rasio nilai

kemurnian DNA yaitu 1,8-2,0 sehingga dapat dikatakan bahwa isolat DNA tidak murni.

Deteksi gen SLC30A8 dengan metode Polymerase Chain Reaction (PCR) yang dilakukan terhadap 25 sampel isolat DNA dari penderita diabetes melitus tipe 2 menggunakan primer forward 5'-GGACAGAAAGAGTTCCCATAGCG-3' dan primer reverse 5'-ATAGCAGCATGTTTGAAGGTGGC-3' mengamplifikasi DNA yang ditunjukkan dengan Gambar 2. Primer yang digunakan dapat mengamplifikasi DNA pada semua sampel. Hasil amplifikasi DNA dengan primer tersebut menunjukkan adanya gen SLC30A8 pada sampel darah penderita diabetes melitus tipe 2 dengan panjang produk 429 bp (Gambar 2).

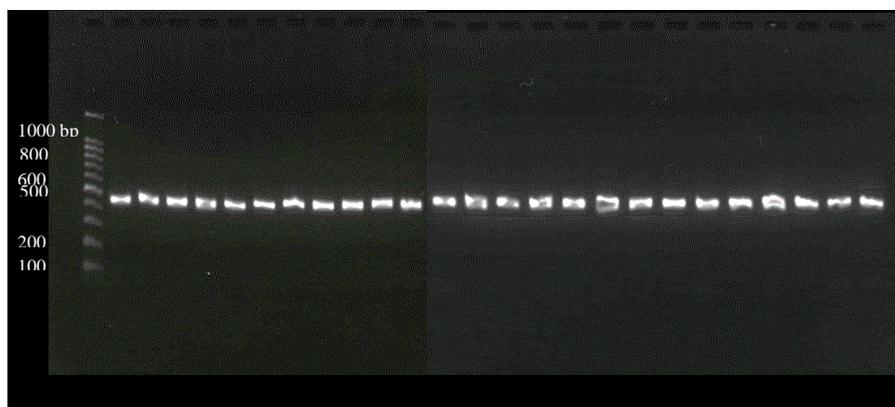
Berdasarkan hasil pada uji kualitatif isolat DNA yang ditunjukkan dengan Gambar 2 diketahui bahwa ketebalan pita DNA bergantung pada adanya DNA yang berada didalam sampel. Pita DNA yang tipis adalah pada sampel nomor 1,

6 dan 14 menunjukkan konsentrasi DNA yang lebih sedikit dibandingkan dengan sampel yang lain. Pita DNA yang tebal dan mengumpul (tidak menyebar) seharusnya menunjukkan konsentrasi yang tinggi dan DNA total yang diekstrak dalam kondisi utuh. Sedangkan, pita DNA yang terlihat menyebar menunjukkan adanya ikatan antar molekul DNA yang terputus pada saat proses ekstraksi berlangsung, sehingga DNA terpotong menjadi bagian-bagian yang lebih kecil (Puspitaningrum, R. & Solihin, 2018). Akan tetapi pada penelitian ini, antara uji kualitatif dengan

tingkat kemurnian dan konsentrasi DNA menunjukkan perbedaan hasil yang diakibatkan oleh teknis saat pengukuran seperti homogenisasi dan proses pemipetan yang kurang tepat sehingga menyebabkan DNA terputus menjadi fragmen-fragmen. Terputusnya ikatan antar molekul tersebut dapat disebabkan oleh adanya gerakan fisik yang berlebihan yang dapat terjadi dalam proses pemipetan, pada saat dibolak-balik dalam ependorf, disentrifus atau bahkan karena temperatur yang terlalu tinggi dan karena aktivitas bahan-bahan kimia tertentu (Aulia et al, 2021).

Tabel 1 Hasil uji kuantitatif isolat DNA

No Sampel	Δ260	Δ280	Konsentrasi DNA (x 50 ng/μl)	Kemurnian DNA (Δ260/Δ280)
1	0.084	-0.001	630	84
2	0.123	-2.881	922.5	0.04
3	0.063	0.186	472.5	0.33
4	0.028	0.010	210	0.35
5	0.099	0.186	742.5	0.53
6	0.118	0.204	885	0.57
7	0.097	-0.001	727.5	97
8	0.097	0.154	727.5	0.62
9	-3.184	0.203	-23.8	15.6
10	0.078	0.186	585	0.41
11	0.118	-2.885	885	0.04
12	0.097	-0.013	727.5	7.4
13	-3.194	0.186	-23.8	17.17
14	0.096	-2.886	720	0.03
15	0.077	0.009	577.5	8.5
16	0.077	0.202	577.5	0.38
17	-3.216	-2.887	-24.1	1.11
18	0.023	0.170	172.5	0.13
19	0.116	-2.888	870	0.04
20	3.223	0.185	-24.17	17.42
21	0.096	-0.023	720	4.17
22	0.116	0.185	870	0.62
23	-3.226	-2.888	-24.195	1.11
24	0.057	0.202	427.5	0.28
25	0.057	0.220	427.5	0.25



Gambar 2. Hasil Visualisasi PCR gen SLC30A8 pada sampel darah Penderita Diabetes mellitus tipe 2

Uji kuantitas isolat DNA meliputi konsentrasi dan kemurnian DNA. Konsentrasi sampel DNA dilakukan dengan mengukur nilai absorbansinya pada panjang gelombang 260nm. Kemurnian DNA dihitung dengan cara nilai absorbansi pada panjang gelombang 260nm dibagi dengan nilai absorbansi pada panjang gelombang 280. Pada tabel 4.1 yang disajikan, tidak didapatkan hasil DNA yang memenuhi tingkat kemurnian yaitu pada rasio 1,8-2,0. Hasil dari kemurnian DNA pada penelitian ini dapat terjadi karena penggunaan kuvet yang tidak dapat menyerap radiasi, terutama pada bagian yang dilewatkan sinar UV (Hardianto, 2020).

Faktor lain yang dapat mempengaruhi hasil dari uji kuantitas DNA dengan menggunakan Spektrofotometer UV Vis adalah kalibrasi alat. Alat yang belum dikalibrasi dapat membuat kualitas dari alat tersebut menurun dan menghasilkan data yang buruk atau tidak valid. Tujuan dari kalibrasi alat juga untuk mengetahui letak kesalahan atau kerusakan secara dini sehingga dapat diperbaiki sebelum alat mengalami kerusakan yang berat (Harvest, 2016).

Primer merupakan salah satu faktor yang dapat mempengaruhi keberhasilan PCR. Primer yang digunakan pada penelitian ini diambil dari jurnal yang diterbitkan oleh Faghih et al, 2014 yang selanjutnya dilakukan perbandingan sekuens primer dengan menggunakan fitur BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) pada NCBI. Panjang genom dari gen SLC30A8 adalah 226.498 basa nukleotida dan primer yang digunakan menempel secara spesifik pada kromosom 8 dengan panjang produk 429 bp.

Optimasi suhu annealing dilakukan untuk mendapatkan komposisi dan kondisi PCR yang sesuai sehingga didapatkan hasil PCR yang optimal sehingga diperoleh hasil DNA dalam jumlah maksimum pada daerah yang ditargetkan (Aulia et al, 2021). Optimasi suhu pada penelitian ini dilakukan pada

range suhu 50-69°C. Pada penelitian ini, suhu annealing yang menunjukkan amplifikasi DNA paling baik adalah pada suhu 63°C sehingga pada proses PCR peneliti menggunakan suhu 63°C untuk annealing. Elektroforesis isolat PCR hasil optimasi yang dilakukan pada penelitian ini menunjukkan adanya primer dimer. Untuk menghindari terjadinya primer dimer peneliti mengurangi volume primer forward dan primer reverse yang semula 2 µl menjadi 1 µl. Selanjutnya pada elektroforesis hasil PCR, penggunaan isolat PCR yang semula 5µl menjadi 2 µl dan gel red yang semula 3 µl menjadi 2 µl. Hasil yang didapat menunjukkan pita yang terpisah dan tidak membentuk primer dimer.

Hasil dari deteksi gen yang ditunjukkan oleh gambar 2. memperlihatkan bahwa suhu annealing pada 63°C dapat mengamplifikasi DNA, suhu ini terlihat bahwa pita yang terbentuk cukup tebal dan terang. Intensitas pita yang semakin meningkat, menunjukkan bahwa kuantitas DNA yang terbentuk semakin banyak. Tidak adanya smear yang terbentuk menunjukkan bahwa DNA yang diamplifikasi tidak mengandung komponen-komponen pengotor. Keadaan tersebut menunjukkan bahwa penggunaan suhu annealing sesuai untuk primer yang digunakan, yang memiliki Tm (Temperature melting) untuk primer forward yaitu 57,4°C dan primer reverse yaitu 58,2°C, sedangkan %GC untuk primer forward sebesar 52,2% dan primer reverse sebesar 47,8%.

DNA yang bergelombang pada elektroforesis dengan gel agarosa dapat disebabkan oleh tidak terendamnya gel agarose pada buffer elektroforesis, volume sampel yang rendah, sumuran yang besar sebaiknya tidak digunakan dengan volume sampel yang kecil dan tidak menggunakan voltase yang terlalu tinggi untuk elektroforesis.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, diketahui bahwa pada sampel darah penderita diabetes melitus tipe 2 yang tergabung sebagai anggota

prolanis diabetes melitus Puskesmas Bulu Sukoharjo terdapat gen *SLC30A8*. Adanya gen tersebut dalam sampel darah penderita Diabetes Melitus tipe 2

SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan terhadap 25 sampel darah penderita diabetes melitus tipe 2 anggota Prolanis Diabetes Melitus Puskesmas Bulu Sukoharjo terdeteksi adanya gen *SLC30A8* yang dilakukan dengan menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR).

DAFTAR PUSTAKA

- Alharbi, K. K., Abudawood, M. & Khan, i. a., 2020. Amino-acid Amendment of Arginine-325-Tryptophan in rs13266634 Genetic Polymorphism Studies of the *SLC30A8* Gene with Type 2 Diabetes-Mellitus Patients Featuring a Positive Family History in the Saudi Population. *Journal of King Saud University*.
- Aulia, Septi Lora., Suwignyo, Rujito Agus., Hasmeda, Mery., 2021. Optimasi Suhu nnealing untuk Amplifikasi DNA Padi Hasil Persilangan Varietas Tahan Terendam dengan Metode *Polymerase Chain Reaction*. *Jurnal Ilmiah Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam* Volume 18 pp. 44-54
- Dewi, D. H., 2018. Hubungan Polimorfisme Gen Uncoupling Protein 2-866 G/A Asupan Magnesium, Kebiasaan Puasa dan Usia Menarche Dengan Kadar Glukosa Darah Pada Perempuan Diabetes Melitus tipe 2. Thesis.
- Faqih, H., Khatami, S. R., Azarpira, N. & Foroughmand, A. M., 2014. *SLC30A8* gene polymorphism (rs13266634 C/T) and type 2 Diabetes Melitus in South Iranian Population. *Mol Biol Rep*, pp. 2709-2715.
- Genomic DNA Mini Kit (Blood/Cultured Cell) (2022) Geneaid.
- Gupta, M. K. & Vadde, R., 2019. Insights into the structure-function

mengakibatkan terjadinya gangguan transportasi seng yang menyebabkan abnormalitas sintesis, pematangan dan sekresi insulin (Faqih *et al.*, 2014).

relationship of both wild and mutant Zinc transporter ZnT8 in human: A computational structural biology approach. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*.

- Handoyo, D. & Rudiretna, A., 2017. Prinsip Umum dan Pelaksanaan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). *Jurnal Universitas Surabaya*, 9(1), pp. 17-29.
- Hapsari, R., 2012. Uji Kuantitatif dan Kualitatif DNA Pule Pandak (*Rauvolfia serpentina* L.. In: Skripsi. Surakarta: Program Studi Agroteknologi Universitas Sebelas Maret.
- Harahap, M. R., 2018. Elektroforesis: Analisis Elektronika Terhadap Biokimia Genetik. *Jurnal Ilmiah Pendidikan Teknik Elektro*, Volume 2, pp. 21-26.
- Hardianto, D., 2020. Telaah Komprehensif Diabetes Melitus: Klasifikasi, Gejala, Diagnosis, Pencegahan dan Pengobatan. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia*, Volume 7.
- Harvest, F. G., 2016. Genetic, Epigenetic and Biological Effects of Zinc Transporter (*SLC30A8*) in Type 1 and Type 2 Diabetes. *Current Diabetes Reviews*, pp. 1-9.
- IDF, 2022. International Diabetes Federation. [Online] Available at: <https://diabetesatlas.org/>[Accessed Oktober 2022].
- Khan, I. A., Jahan, P., Hasan, Q. & Rao, P., 2015. Validation of the Association of TCF7L2 and *SLC30A8* Gene Polymorphisms with Post Transplant Diabetes Mellitus in Asian Indian Population. *Intractable & Rare Diseases Research*, 4(2), pp. 87-92.
- Liu, Jia., Wang, Lu., Qian, Yun., Dai, Juncheng., Shen, Chong., Jin, Guangfu., Hu, Zhibin., Shen, Hongbing., 2018. Association of 48

- type2 diabetes susceptibility loci with fasting plasma glucose and lipid levels in Chinese Hans. pp. 114-121.
- NCBI, 2022. [Online]Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs13266634> [Accessed September 2022].
- Puspitaningrum, R. & Solihin, A. C., 2018. Genetika Molekuler dan Aplikasinya. pp. 2-9.
- Qiagen, 2013. Why do I Have Wavy DNA Bands on my agarose gel? [Online] Available at: <https://www.qiagen.com/id/resources/faq?id=dfb243d4-eb9a-4e60-bad7-37fe2c7d371d&lang=en> [accessed Maret 2023].
- 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, Volume 4, pp. 36-40.
- Silalahi, L., 2019. Hubungan Pengetahuan dan Tindakan Pencegahan Diabetes Melitus Tipe 2. Jurnal PROMKES 7 (2), p. 223.