

Mutasi Daerah *D-Loop* DNA Mitokondria pada Penderita Asma

Rina Budi Satiyarti^{1*}, Yohana Permata Sari², Tina Dewi Rosahdi³ 

^{1,2,3}Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Sunan Gunung Djati, Bandung, Indonesia

ARTICLE INFO

Article history:

Received August 15, 2022

Revised August 20, 2022

Accepted April 12, 2023

Available online July 25, 2023

Kata Kunci:

Asma, mtDNA, *D-Loop*, PCR, Mutasi

Keywords:

Asthma, mtDNA, *D-Loop*, PCR, Mutation



This is an open access article under the [CC BY-SA](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/) license.

Copyright © 2023 by Author. Published by Universitas Pendidikan Ganesha.

ABSTRAK

Asma adalah penyakit radang kronis yang disebabkan oleh inflamasi sel darah putih. Asma dapat terjadi karena adanya reaksi terhadap lingkungan dan kombinasi rangsangan genetik. Rangsangan genetik akan mempengaruhi urutan basa nitrogen pada asam deoksiribonukleat mitokondria (mtDNA). Tujuan penelitian ini adalah menganalisis jenis mutasi yang terjadi di daerah *D-Loop* mtDNA penderita asma. Pada penelitian ini dilakukan penyiapan cetakan DNA dari sel akar rambut penderita asma dan manusia normal menggunakan metode buffer lisis. Amplifikasi fragmen *D-Loop* mitokondria dari DNA cetakan menggunakan teknik *Polymerase Chain reaction* (PCR). Deteksi amplikon fragmen *D-Loop* dilakukan dengan cara memisahkan amplikon berdasarkan ukuran molekul melalui metode elektroforesis gel agarosa, dan penentuan urutan nukleotida fragmen *D-Loop* ditentukan melalui metode dideoksi Sanger. Dari hasil pensejajaran urutan DNA secara *in silico*, diperoleh 7 mutasi, yaitu a(16037)-, c(16108)T, g(16129)A, a(16162)G, t(16172)C, t(16304)C, t(16519)C ditemukan pada penderita asma dan sesuai dengan standar dari basis data *Cambridge Reference Sequence* (CRS). Pada pensejajaran urutan nukleotida antara kontrol CRS dan manusia normal tidak ditemukan adanya mutasi substitusi, ataupun delesi yang berkaitan dengan mutasi pada penyakit asma. Adanya mutasi memperkuat data sebagai ciri genotip gangguan pernafasan seperti penyakit asma.

ABSTRACT

Asthma is an inflammatory chronic disease caused by white blood cell inflammation. Asthma happened as a reaction of unsuitable environment and genetical stimulation. A genetical stimulation would affect variation of nitrogen base mitochondrial deoxyribonucleic acid (mtDNA). The aim of this research was to analyze a various type of mutation which occurred in *D-Loop* region of asthma patient mitochondria. DNA template was prepared from hair root cells using buffer lysis method. *D-Loop* fragment from template DNA was amplified using *Polymerase Chain Reaction* (PCR) technique. Amplicon was detected based on DNA size separation using agarose gel electrophoresis method, and the fragment was sequenced by using dideoxy Sanger method. The result showed 7 mutations, there were a(16037)-, c(16108)T, g(16129)A, a(16162)G, t(16172)C, t(16304)C, t(16519). All mutations were compatible to database of *Cambridge Reference Sequence* (CRS) for people with asthma. Further information showed that all mutations had only occurred in asthma sample. This results were useful to strengthen the database as genotype characteristic for asthma.

1. PENDAHULUAN

Asma adalah penyakit kronis pada saluran pernafasan dan struktur paru-paru yang prevalensinya masih meningkat di seluruh dunia (Hanafi et al., 2021; Yudhawati & Krisdanti, 2019). Asma ditandai dengan adanya episode berulang dari sesak nafas, nafas berbunyi (mengi), dada terasa berat, dan batuk (Gupta, M., K., Rakesh Gupta, R., Khunteta, A., Swarnkar, S., 2017). Gejala biasanya memburuk pada waktu malam atau pagi hari atau sebagai respons terhadap kegiatan olahraga atau udara dingin (Kaplan, Balter, Bell, Kim, & McIvor, 2009; Sockrider & Fussner, 2020). Pada sejumlah penderita asma, ada yang jarang menunjukkan gejala, sebagai respons terhadap pemicu, sedangkan sejumlah penderita asma yang lain mungkin menunjukkan gejala yang nyata dan persisten (Kaplan et al., 2009; Papi et al., 2020).

Diagnosis pada asma berdasar pada pola gejala, respons terhadap terapi pada kurun waktu tertentu, dan pemeriksaan menggunakan spirometri (Louis et al., 2022). Spirometri merupakan sebuah uji untuk mendeteksi adanya gangguan pada paru-paru, dengan cara mengukur jumlah oksigen maksimal yang dapat dihirup pada satu waktu (Graham et al., 2019; Townsend & Dreger, 2020). Diagnosa lainnya yaitu dengan pemeriksaan sputum. Sputum dihasilkan oleh produksi eosinofil. Eosinofil merupakan sel darah putih yang dihasilkan pada masa penyembuhan setelah serangan dan berbentuk nanah (Habib, Pasha, & Tang, 2022; Porpodis et al., 2022).

Asma pada dasarnya dapat digolongkan menjadi dua jenis berdasarkan faktor pemicunya, yang pertama adalah asma yang diakibatkan oleh faktor ekstrinsik, contohnya adalah asma alergi yang

*Corresponding author.

E-mail addresses: rinabudisatiyarti@uinsgd.ac.id (Rina Budi Satiyarti)

disebabkan oleh allergen. Jenis yang kedua adalah asma yang diakibatkan oleh faktor intrinsik, yaitu asma yang timbul akibat penggunaan aspirin, infeksi paru-paru, olah raga, suhu, stres, obesitas, dan lain-lain yang bersumber dari manusia (del Carmen Vennera & Picado, 2014; Habib et al., 2022). Adanya peningkatan laju penderita asma belakangan ini disebabkan oleh perubahan faktor epigenetik dan lingkungan hidup yang berubah (Yang, Lozupone, & Schwartz, 2017). Peneliti telah menemukan asosiasi mitokondria yang signifikan haplogroup U dengan peningkatan kadar IgE dan asma serta disfungsi mitokondria yang dikaitkan dengan peningkatan inflamasi saluran napas alergi (Anandan, Nurmatov, Van Schayck, & Sheikh, 2010; Raby et al., 2007). Juga telah diamati risiko asma untuk anak, ibu dengan asma lebih tinggi akan beresiko menurunkan asma kepada anaknya dibandingkan dengan ayah, hal ini dibuktikan dengan adanya perubahan ekspresi gen di mitokondria pada plasenta ibu yang memiliki asma (Aguilera-Aguirre et al., 2009; Qian, Mehrabi Nasab, Athari, & Athari, 2022). Hal ini dikarenakan ibu akan menurunkan sifat genetik pada DNA mitokondria (mtDNA) kepada anaknya (Derisoud et al., 2022; Hutchison, Newbold, Potter, & Edgell, 1974).

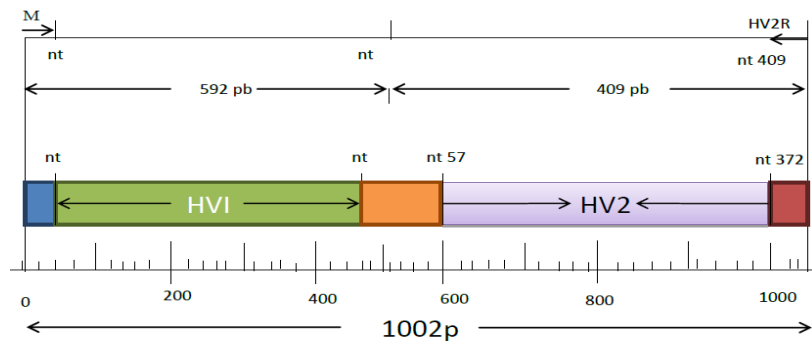
Mitokondria memainkan peran penting dalam proses inflamasi. Telah diketahui bahwa asma ditandai oleh peradangan kuat pada saluran udara yang akhirnya mengarah ke remodeling alur udara pada paru (Amorim, Fernandes, & Taveira, 2019; Hough et al., 2020) Peradangan dipicu oleh pemaparan sel epitel saluran napas terhadap stres oksidatif yang dimediasi oleh apa yang disebut spesies oksigen reaktif (ROS) (Lim, Kobzik, & Dahl, 2010). ROS endogen terutama dihasilkan oleh mitokondria, apabila terjadi disfungsi mitokondria maka akan terjadi kelebihan ROS dan meningkatkan peradangan. Sebaliknya, ROS yang berlebihan dapat merusak mitokondria sampai terjadi apoptosis sel epitel bronkial. Dengan cara ini peradangan alergi sel-sel epitel bronkial dapat menyebabkan disfungsi dan remodeling saluran udara selama asma (Lim et al., 2010; Lin et al., 2019).

Mitokondria memiliki genom tersendiri yang berbeda dengan genom pada inti sel. DNA mitokondria (MtDNA) terbagi menjadi daerah pengkode dan daerah non pengkode. Daerah pengkode protein melituti 37 gen pengkode untuk rRNA, 22 tRNA, dan 13 polipeptida yang merupakan subunit kompleks enzim yang terlibat dalam fosforilasi oksidatif. Daerah yang tidak mengkode yaitu *D-Loop* (Roger, Muñoz-Gómez, & Kamikawa, 2017; Shokolenko & Alexeyev, 2022). Daerah *D-Loop* ini sangat beragam antara individu satu dengan individu lainnya, baik pada individu penderita penyakit genetik seperti asma. *D-Loop* terdiri dari daerah Hipervariabel 1 (HV1) dan hipervariabel 2 (HV2) (Sylvester, Krishna, Rao, & Chandrasekar, 2018). Daerah Hipervariabel 1 (HV1) bersifat sangat variatif (mempunyai urutan basa nukleotida yang bervariasi) dan mempunyai laju evolusi lima kali lebih cepat dibandingkan dengan daerah HV2 (Ngili, Ubyaan, Palit, Bolly, & Noer, 2012; Tran et al., 2020). Namun, terdapat keunikan pada daerah HV1 dibandingkan daerah HV2, yaitu memiliki tingkat polimorfisme (substitusi basa) yang tinggi dalam DNA mitokondria (Andres, Cardena, Fridman, & Podgaec, 2018; Singh, Kumar, Urs, & Kapoor, 2022). Keterkaitan antara perubahan mtDNA pada penderita asma dan manusia normal saat ini berada pada bagian penyandi pada mtDNA dan bagian *non-coding* (Xu et al., 2019). Untuk daerah penyandi terutama pada daerah gen penyandi protein yang terlibat pada fosforilasi oksidatif dan bagian *non-coding* pada daerah *D-Loop* (Jang et al., 2020). Menariknya, data variasi basa nitrogen pada daerah *D-Loop* masih terbatas pada penderita asma dibandingkan dengan daerah penyandi, walaupun keboleh jadian mutasi pada daerah *D-Loop* lebih bervariasi dibandingkan daerah penyandi (Jang et al., 2020; Mori et al., 2022; Xu et al., 2019; Zifa et al., 2012). Oleh karena itu, pencarian variasi mutasi pada daerah *D-Loop* akan menambah karakteristik mutasi pada struktur mtDNA penderita asma yang dapat mempermudah diagnosis yang lebih akurat pada penyakit saluran pernafasan, seperti asma dengan penyakit lainnya yang memiliki gejala umum sesak nafas, agar dapat memperoleh terapi yang tepat. Selain itu, informasi yang didapatkan akan memperkuat informasi variasi basa nitrogen pada *database* mtDNA yang berkenaan dengan asma yang nantinya dapat dikembangkan untuk menjadi biomarker pada diagnosis asma.

2. METODE

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental. Sampel diambil melalui kriteria *purposive random sampling method* pada penderita asma di suatu area (Kelurahan Cipadung, kota Bandung). Adapun subyek penelitian ini adalah genom DNA manusia yang berasal dari akar rambut penderita asma (ASMA-KIMFST-UINSGD) dan manusia normal (YHN-KIMFST-UINSGD). Pengumpulan data dilakukan melalui eksperimen pada laboratorium. Langkah-langkah penelitian meliputi: lisis sel akar rambut memakai metode bufer lisis (*Qiagen*). Keberhasilan terlepasnya DNA genom dari sel dapat dilihat dari hasil elektroforesis gel agarosa (*CIE-PLAS*) supernatan hasil lisis, dan visualisasi hasil elektroforesis dilihat menggunakan lampu LED (B/uPAD). Selanjutnya supernatan hasil lisis digunakan sebagai DNA cetakan. Amplifikasi daerah *D-Loop* mtDNA sampel dengan teknik PCR (*SensQuest (Labcycler)*) dengan primer maju M1 -CACCATTAGCACCCAAAGCT- dan primer balik HV2R -CTGTTAAAAGTGCATACCGCC- yang mengapit

daerah kontrol mtDNA, yang dapat dilihat pada Gambar 1. Konsentrasi amplicon dihitung menggunakan *nanoquant (palte tecan 200M PRO)*. Penentuan urutan nukleotida (sekuensing) dilakukan menggunakan metode dideoksi Sanger (*Macrogen Inc, Korea*). Metode ini didasarkan pada penambahan ddNTP (*doubeeldeoksi NTP*) untuk menentukan setiap urutan basa nitrogen. Pada dan analisis urutan nukleotida menggunakan program *SeqMan DNASTAR* untuk menentukan adanya mutasi.



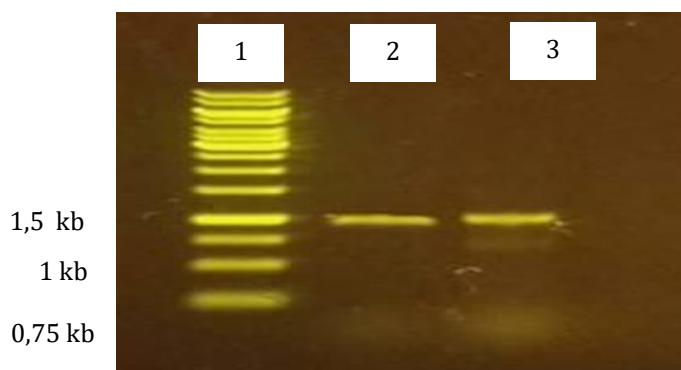
Gambar 1. Diagram Ukuran Fragmen Daerah *D-Loop* mtDNA pada Penelitian

Data fragmen DNA yang telah didapatkan urutan nukleotidanya kemudian dianalisis secara *in silico*. Untuk mengetahui kebenaran fragmen yang di amplifikasi benar merupakan bagian dari daerah *D-Loop* mitokondria, digunakan menu BLAST pada situs bioinformatika NCBI. Selanjutnya, dilakukan penjejarian urutan nukleotida dengan *database* yang didapatkan dari situs bioinformatika *Cambridge Reverse Sequence (CRS)* menggunakan software *seqman* dari DNA STAR. Pensejarian ini digunakan untuk melihat perbedaan basa nitrogen pada kedua sampel dan *database*. Hasil analisa data perbedaan basa nitrogen kemudian dikonfirmasi kebenarannya pada situs bioinformatika MITOMAP.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Ukuran amplicon fragmen *D-Loop* mtDNA pada kedua sampel hasil amplifikasi DNA berukuran menggunakan primer M1 dan HV2 adalah 1 kb yang disajikan pada Gambar 2. Hasil eksperimen ini sama dengan hasil perhitungan teoritis untuk menentukan ukuran fragmen DNA target. Adapun penjelasan kesesuaian antara pengukuran teoritis ukuran target dan hasil eksperimen adalah sebagai berikut. Jumlah total pasang basa DNA mitokondria yaitu 16.569 pb. Ukuran amplicon fragmen *D-Loop* dihitung berdasarkan selisih total pasangan basa dalam mtDNA dengan posisi awal primer M1 (15.978 pb) + 1 dan posisi awal primer HV2R (409) + 1. Sehingga hasil diagram ukuran fragmen daerah *D-Loop* mtDNA yaitu 1,002 kb. Hasil elektroforesis gel agarosa 1 % pada amplicon sel akar rambut dari kedua sampel asma (ASMA-KIMFST-UINSGD) dan (YHN-KIMFST-UINSGD) membentuk pita pada posisi 1 kilobasa (kb).

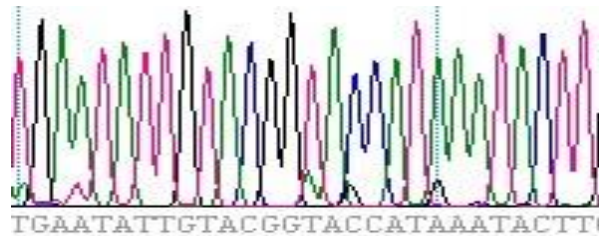


Gambar 2. Elektroforesis Amplicon Fragmen *D-Loop* mtDNA

Keterangan :

1. Penanda DNA (*marker*) *GeneRuler 1 Kb DNA Ladder*.
2. Fragmen *D-Loop* target dari sampel ASMA-KIMFST-UINSGD
3. Fragmen *D-Loop* target dari sampel YHN-KIMFST-UINSGD

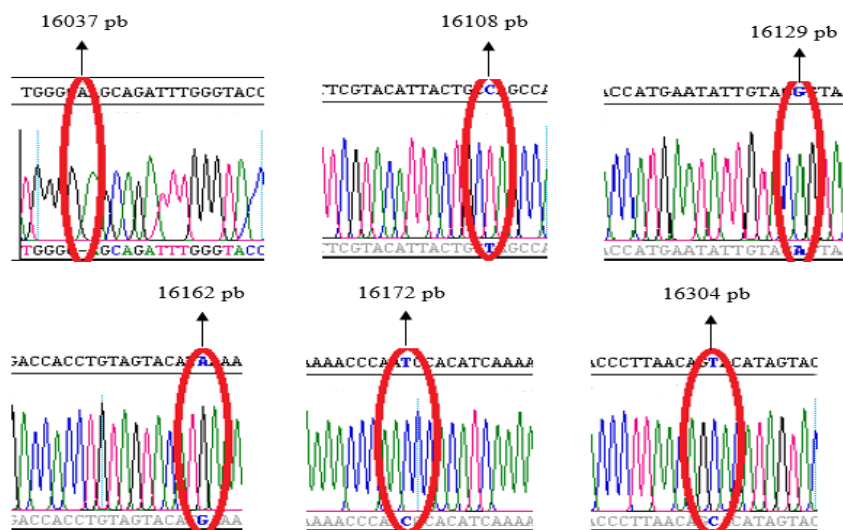
Fragmen *D-Loop* kemudian diperbanyak untuk ditentukan urutan nukleotidanya (DNA sequencing). Hasil sekuensing fragmen *D-Loop* memperlihatkan elektroforegram yang terdiri dari 4 puncak berbeda warna sesuai dengan jenis basa nitrogen yang terdapat pada masing-masing nukleotida, warna hijau untuk adenin, hitam untuk guanin, merah untuk timin dan biru untuk sitosin, terdapat pada Gambar 3. Pada Gambar 3 terlihat pula pemisahan puncak yang tidak saling tumpang tindih, hal ini memiliki arti bahwasanya urutan nukleotida adalah benar satu basa diwakilkan satu puncak, sehingga hasil urutan basa yang tertera di bagian bawah elektroforegram adalah benar. Elektroforegram berwarna hitam menunjukkan basa guanin, hijau untuk adenin, merah untuk timin, dan biru untuk sitosin.



Gambar 3. Potongan Elektroforegram Hasil Penentuan Urutan Nukleotida Fragmen *D-Loop*.

Analisis pensejajaran kepastian urutan nukleotida terhadap daerah 1002 pasang basa (pb) fragmen *D-Loop* mtDNA menggunakan standar urutan nukleotida pada genom manusia berdasarkan CRS (*Cambridge Reference Sequence*) Anderson yang telah direvisi oleh Andrew. Analisis urutan nukleotida dilakukan dengan cara menempatkan posisi nukleotida sampel sejajar dengan urutan nukleotida CRS pada penderita asma dan normal pada software *SeqMan DNA*. Hasil pensejajaran menunjukkan bahwa urutan nukleotida yang diperoleh adalah benar bagian dari daerah *D-Loop* mitokondria manusia. Selain mengetahui urutan nukleotida, pada program *SeqMan DNA* juga dapat dilakukan identifikasi mutasi yang terjadi pada fragmen *D-loop* hasil eksperimen. Penulisan nukleotida yang mengalami mutasi harus sesuai dengan aturan penulisan mutasi, yaitu nukleotida pertama merupakan nukleotida *Cambridge* dan nukleotida yang kedua merupakan nukleotida sampel penderita asma terdapat pada Gambar 4 dan normal terdapat pada Gambar 5.

Pada hasil analisis mutasi Gambar 4, diperoleh sebanyak 7 mutasi nukleotida yang serupa antara sampel ASMA-KIMFST-UINSGD dan *Cambridge Reference Sequence* (CRS). Terdapat satu mutasi delesi (kehilangan pasangan nukleotida) dimana posisi 16037 pb dari kehilangan basa nukleotida menjadi basa adenin (A), juga terdapat enam mutasi substitusi (menempatkan urutan nukleotida pada posisi yang salah) yaitu pada posisi 16108 pb dari basa timin (T) menjadi sitosin (C), posisi 16129 pb dari basa adenin (A) menjadi guanin (G), posisi 16162 pb dari basa guanin (G) menjadi adenin (A), posisi 16172 pb dari basa sitosin (C) menjadi timin (T), posisi 16304 pb dari basa sitosin (C) menjadi timin (T), dan posisi 16519 pb dari basa sitosin (C) menjadi timin (T). Berikut analisis mutasi pada sampel penderita asma yang diperoleh dari *Cambridge* dapat dilihat pada Tabel 1. Sedangkan pada pensejajaran sampel YHN-KIMFST-UINSGD, tidak didapatkan mutasi substitusi seperti pada sampel ASMA-KIMFST-UINSGD yang memiliki fenotip asma.





Gambar 4. Hasil Pensejajaran Urutan Nukleotida antara Standar CRS dan Sampel ASMA-KIMFST-UINSGD.

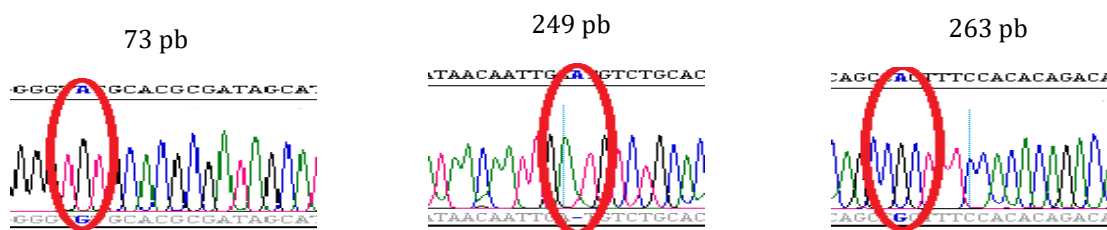
Keترangan :

Lingkaran Merah Menunjukkan Mutasi yang terjadi, sedangkan Posisi Mutasi Ditunjukkan pada Angka di atas Elektroforegram

Tabel 3. Data Mutasi pada Sampel ASMA-KIMFST-UINSGD

Kode Sampel	Jenis Kelamin	Jenis Penyakit	Umur (Tahun)	Posisi Mutasi	Jumlah Mutasi
ASMA-KIMFST-UINSGD	Perempuan	Asma	22	a(16037)- c(16108)T g(16129)A a(16162)G t(16172)C t(16304)C t(16519)C	7
CAMBRIDGE	-	Asma	-	a(16037)- c(16108)T g(16129)A a(16162)G t(16172)C t(16304)C t(16519)C a(3243)G t(5655)C a(14693)G g(15927)A	11

Pada hasil pensejajaran mtDNA normal diperoleh tiga mutasi yang sama dengan *Cambridge Reference Sequence* (CRS) terdapat pada Gambar 5. Dua mutasi substitusi yaitu pada posisi 73 pb dari basa guanin menjadi adenin (A) dan pada posisi 263 pb dari basa guanin menjadi adenin (A). Adapun yang terjadi pada mutasi delesi yaitu pada posisi 249 pb dari basa adenin (A) menjadi hilang yang tersaji pada Tabel 2.



Gambar 5. Hasil Pensejajaran antara Sampel Normal dan CRS

Tabel 2. Mutasi pada sampel YHN-KIMFST-UINSGD

Kode Sampel	Jenis Kelamin	Jenis Penyakit	Umur (Tahun)	Posisi Mutasi
YHN-KIMFST-UINSGD	Perempuan	Normal	23	a(73)G a(249)- a(263)G
CAMBRIDGE	-	Asma	-	a(73)G a(249)- a(263)G

Pembahasan

Kaitan antara mutasi DNA mitokondria dengan penderita asma adalah mitokondria berperan penting dalam proses inflamasi pada sel yang akan memicu peradangan (Hough *et al.*, 2020). Telah diketahui bahwa asma ditandai oleh peradangan kuat pada saluran udara yang akhirnya mengarah ke *remodeling* jalan udara pada sistem pernafasan. Beberapa mutasi yang ditemukan pada sampel ASMA-KIMFST-UINSGD ternyata terdapat juga pada manusia yang hidup dengan gangguan saluran pernafasan dan paru-paru. Mutasi G16129A dan C16108T ternyata ditemukan juga pada pasien yang mengalami kanker nasofaring, yang secara mutasi ini akan menghalangi jalannya oksigen dari hidung ke paru-paru (Pang, Shao, Liang, Xia, & Zeng, 2008). Pada data mutasi T16519C, ternyata mutasi ini terdapat juga pada penderita kanker paru-paru (Yang Ai *et al.*, 2013). Selanjutnya, mutasi T16519C terdapat juga pada manusia dengan gangguan asupan oksigen yang dibutuhkan pada ketinggian, disebut dengan penyakit high altitude pulmonary edema (HAPE), dimana mutasi ini berkaitan dengan terjadinya penyempitan pembuluh darah di paru-paru pada penderita HAPE (Wang *et al.*, 2022). Dari penjelasan ketiga mutasi tersebut, dapat diketahui bahwa terjadinya mutasi pada sampel berkaitan dengan kemampuan mitokondria dalam bekerja maksimal untuk menghasilkan energi dan mencegah radikal bebas. Sehingga terdapat *remodeling* alur udara pada sistem pernafasan. Terlebih lagi ketiga mutasi yang ditemukan G16129A, C16108T, dan T16519C miliki juga pada orang yang memiliki gangguan pernafasan, hal ini memperkuat dugaan bahwa ketiga mutasi ini identik dengan mutasi DNA mitokondria yang berkenaan dengan gangguan pernafasan. Selain itu, ditemukannya ketiga mutasi tersebut pada penderita asma, menambah informasi baru bahwa ketiga mutasi dimiliki juga oleh DNA mitokondria pada penderita asma yang selama ini belum pernah ditemukan pada penderita asma tanpa ada gangguan lain pada sistem pernafasan. Sehingga, data ini dapat memperkuat *database* mutasi DNA mitokondria pada penderita gangguan pernafasan termasuk asma.

Sampel YHN-KIMFST-UINSGD berfungsi sebagai pengontrol yang berperan sebagai acuan bilamana terjadi mutasi pada sample ASMA-KIMFST-UINSGD yang memiliki fenotip asma. Dari hasil penjejarian terlihat bahwa mutasi pada Sampel YHN-KIMFST-UINSGD tidak berkaitan dengan asma dan gangguan paru-paru, sehingga dapat dijadikan perbandingan dengan sampel ASMA-KIMFST-UINSGD. Amplifikasi daerah HV1 pada DNA mitokondria manusia pada umumnya akan menghasilkan variasi DNA mitokondria daerah HV1 yang menjadi daerah analisis pada perpindahan manusia ataupun identifikasi garis keturunan (Ngili *et al.*, 2012). Adapun mutasi DNA yang terjadi pada YHN-KIMFST-UINSGD menunjukkan mutasi identitas dari populasi asia tenggara dengan garis keturunan haplogroup *M*. Haplogroup *M* merupakan haplogroup yang memiliki garis keturunan berasal dari Afrika Timur yang tersebar ke Asia Timur melalui benua India dengan beragam haplotipe yang berkembang di Asia Selatan dan menjadi bagian dari ekspansi awal kelompok manusia modern ke Asia Tenggara dengan sebagian besar mtDNA ada di sana. Haplogroup *M* terjadi pada semua populasi Asia Tenggara dengan berbagai variasi frekuensi (25% – 45%) tertinggi terjadi di Melayu (Hill *et al.*, 2007; Schurr & Wallace, 2002). Melayu adalah etnis sekelompok orang berbahasa Austronesia didominasi oleh penghuni negara-negara modern seperti Singapura, Malaysia, dan Indonesia. Kelompok etnis Melayu Asia salah satu nya adalah Minangkabau (suku Minang) yang menganut adat bersifat matrilineal, mempunyai pemuka-pemuka adat atau penghulu yang disebut datuk dan hidup bersuku-suku menurut garis ibu (Wong *et al.*, 2013).

4. SIMPULAN

Tiga mutasi DNA mitokondria yang ditemukan, yaitu G16129A, C16108T, dan T16519C dari sampel ASMA-KIMFST-UINSGD adalah mutasi substitusi yang baru ditemukan pada penderita asma dari Indonesia dan belum dilaporkan keberadaannya. Ketiga mutasi ini merupakan bagian dari penyumbang berubahnya jalur udara pada sistem pernafasan, dan berdampak negatif pada asupan udara ke dalam sistem pernafasan penderita asma.

5. DAFTAR PUSTAKA

- Aguilera-Aguirre, L., Bacsı, A., Saavedra-Molina, A., Kurosky, A., Sur, S., & Boldogh, I. (2009). Mitochondrial Dysfunction Increases Allergic Airway Inflammation. *The Journal of Immunology*, 183(8), 5379–5387. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0900228>.
- Amorim, A., Fernandes, T., & Taveira, N. (2019). Mitochondrial DNA in human identification: A review. *PeerJ*, 7. <https://doi.org/10.7717/peerj.7314>.
- Anandan, C., Nurmatov, U., Van Schayck, O. C. P., & Sheikh, A. (2010). Is the prevalence of asthma declining? Systematic review of epidemiological studies. *Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 65(2), 152–167. <https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.2009.02244.x>.
- Andres, M. P., Cardena, M. M. S. G., Fridman, C., & Podgaec, S. (2018). Polymorphisms of mitochondrial DNA

- control region are associated to endometriosis. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 35(3), 533–538. <https://doi.org/10.1007/s10815-017-1082-4>.
- del Carmen Vennera, M., & Picado, C. (2014). Novel diagnostic approaches and biological therapeutics for intrinsic asthma. *International Journal of General Medicine*, 7, 365–371. <https://doi.org/10.2147/IJGM.S45259>.
- Derisoud, E., Jouneau, L., Dubois, C., Archilla, C., Jaszczyszyn, Y., Legendre, R., ... Chavatte-Palmer, P. (2022). Maternal age affects equine day 8 embryo gene expression both in trophoblast and inner cell mass. *BMC Genomics*, 23(1). <https://doi.org/10.1186/s12864-022-08593-7>.
- Graham, B. L., Steenbruggen, I., Barjaktarevic, I. Z., Cooper, B. G., Hall, G. L., Hallstrand, T. S., ... Thompson, B. R. (2019). Standardization of spirometry 2019 update an official American Thoracic Society and European Respiratory Society technical statement. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 200(8), E70–E88. <https://doi.org/10.1164/rccm.201908-1590ST>.
- Gupta, M., K., Rakesh Gupta, R., Khunteta, A., Swarnkar, S., K. (2017). An Overview of Asthma and its treatment. *Journal of Biomedical and Pharmaceutical Research*, 6(5), 32–36.
- Habib, N., Pasha, M. A., & Tang, D. D. (2022). Current Understanding of Asthma Pathogenesis and Biomarkers. *Cells*, 11(17), 1–17. <https://doi.org/10.3390/cells11172764>.
- Hanafi, N. S., Agarwal, D., Chippagiri, S., Brakema, E. A., Pinnock, H., Sheikh, A., ... Khoo, E. M. (2021). Chronic respiratory disease surveys in adults in low- and middle-income countries: A systematic scoping review of methodological approaches and outcomes. *Journal of Global Health*, 11, 1–11. <https://doi.org/10.7189/jogh.11.04026>.
- Hill, C., Soares, P., Mormina, M., Macaulay, V., Clarke, D., Blumbach, P. B., ... Richards, M. (2007). A mitochondrial stratigraphy for Island Southeast Asia. *American Journal of Human Genetics*, 80(1), 29–43. <https://doi.org/10.1086/510412>.
- Hough, K. P., Curtiss, M. L., Blain, T. J., Liu, R. M., Trevor, J., Deshane, J. S., & Thannickal, V. J. (2020). Airway Remodeling in Asthma. *Frontiers in Medicine*, 7(May). <https://doi.org/10.3389/fmed.2020.00191>.
- Hutchison, C., Newbold, J., Potter, S., & Edgell, M. (1974). Maternal inheritance of mitochondrial DNA. *Nature*, 251, 536–538. <https://doi.org/10.1038/251536a0>.
- Jang, H., Kim, M., Hong, J. Y., Cho, H. J., Kim, C. H., Kim, Y. H., ... Kim, K. W. (2020). Mitochondrial and nuclear mitochondrial variants in allergic diseases. *Allergy, Asthma and Immunology Research*, 12(5), 877–884. <https://doi.org/10.4168/aaair.2020.12.5.877>.
- Kaplan, A. G., Balter, M. S., Bell, A. D., Kim, H., & McIvor, R. A. (2009). Diagnosis of asthma in adults. *CMAJ. Canadian Medical Association Journal*, 181(10), 210–220. <https://doi.org/10.1503/cmaj.080006>.
- Lim, R. H., Kobzik, L., & Dahl, M. (2010). Risk for asthma in offspring of asthmatic mothers versus fathers: A meta-analysis. *PLoS ONE*, 5(4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0010134>.
- Lin, L. Sen, Wang, J. F., Song, J., Liu, Y., Zhu, G., Dai, Y., ... Chen, X. (2019). Cooperation of endogenous and exogenous reactive oxygen species induced by zinc peroxide nanoparticles to enhance oxidative stress-based cancer therapy. *Theranostics*, 9(24), 7200–7209. <https://doi.org/10.7150/thno.39831>.
- Louis, R., Satia, I., Ojanguren, I., Schleich, F., Bonini, M., Tonia, T., ... Usmani, O. S. (2022). European Respiratory Society guidelines for the diagnosis of asthma in adults. *European Respiratory Journal*, 60(3). <https://doi.org/10.1183/13993003.01585-2021>.
- Mori, K. M., McElroy, J. P., Weng, D. Y., Chung, S., Fadda, P., Reisinger, S. A., ... Song, M. A. (2022). Lung mitochondrial DNA copy number, inflammatory biomarkers, gene transcription and gene methylation in vapers and smokers. *EBioMedicine*, 85, 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2022.104301>.
- Ngili, Y., Ubyaan, R., Palit, E. I. Y., Bolly, H. M. B., & Noer, A. S. (2012). Nucleotide mutation variants on D-loop HVS1/HVS2 mitochondrial DNA region: Studies on Papuan population, Indonesian. *European Journal of Scientific Research*, 72(1), 64–73.
- Pang, L. J., Shao, J. Y., Liang, X. M., Xia, Y. F., & Zeng, Y. X. (2008). Mitochondrial DNA somatic mutations are frequent in nasopharyngeal carcinoma. *Cancer Biology and Therapy*, 7(2), 198–207. <https://doi.org/10.4161/cbt.7.2.5256>.
- Papi, A., Blasi, F., Canonica, G. W., Morandi, L., Richeldi, L., & Rossi, A. (2020). Treatment strategies for asthma: Reshaping the concept of asthma management. *Allergy, Asthma and Clinical Immunology*, 16(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/s13223-020-00472-8>.
- Porpodis, K., Tsiouprou, I., Apostolopoulos, A., Ntontsi, P., Fouka, E., Papakosta, D., ... Domvri, K. (2022). Eosinophilic Asthma, Phenotypes-Endotypes and Current Biomarkers of Choice. *Journal of Personalized Medicine*, 12(7). <https://doi.org/10.3390/jpm12071093>.
- Qian, L., Mehrabi Nasab, E., Athari, S. M., & Athari, S. S. (2022). Mitochondria signaling pathways in allergic asthma. *Journal of Investigative Medicine: The Official Publication of the American Federation for*

- Clinical Research*, 70(4), 863–882. <https://doi.org/10.1136/jim-2021-002098>.
- Raby, B. A., Klanderan, B., Murphy, A., Mazza, S., Camargo, C. A., Silverman, E. K., & Weiss, S. T. (2007). A common mitochondrial haplogroup is associated with elevated total serum IgE levels. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 120(2), 351–358. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2007.05.029>.
- Roger, A. J., Muñoz-Gómez, S. A., & Kamikawa, R. (2017). The Origin and Diversification of Mitochondria. *Current Biology*, 27(21), R1177–R1192. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.09.015>.
- Schurr, T. G., & Wallace, D. C. (2002). Mitochondrial DNA diversity in Southeast Asian populations. *Human Biology*, 74(3), 431–452. <https://doi.org/10.1353/hub.2002.0034>.
- Shokolenko, I., & Alexeyev, M. (2022). Mitochondrial DNA: Consensuses and Controversies. *Dna*, 2(2), 131–148. <https://doi.org/10.3390/dna2020010>.
- Singh, H., Kumar, S., Urs, A. B., & Kapoor, S. (2022). Identification of sequence polymorphisms in the D-loop region of mitochondrial DNA as valuable biomarkers for salivary gland tumors: an observational study. *Egyptian Journal of Otolaryngology*, 38(1), 0–5. <https://doi.org/10.1186/s43163-022-00208-y>.
- Sockrider, M., & Fussner, L. (2020). What is asthma? *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 202(9), P25–P26. <https://doi.org/10.1164/rccm.2029P25>.
- Sylvester, C., Krishna, M. S., Rao, J. S., & Chandrasekar, A. (2018). Allele frequencies of mitochondrial DNA HVR III 514–524 (CA)_n dinucleotide repeats in the Urali Kuruman tribal population of South India. *Egyptian Journal of Forensic Sciences*, 8(1). <https://doi.org/10.1186/s41935-018-0083-5>.
- Townsend, M. C., & Dreger, M. (2020). Spirometry in Occupational Health-2020. *Journal of Occupational and Environmental Medicine*, 62(5), E208–E230. <https://doi.org/10.1097/JOM.0000000000001851>.
- Tran, T. T. H., Nguyen, D. H., Tran, V. K., Nguyen, Q. L., Trinh, H. A., Luong, L. H., ... Van Ta, T. (2020). Variation of Mitochondrial DNA HV1 AND HV2 of the Vietnamese Population. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1292, 37–63. https://doi.org/10.1007/5584_2018_301.
- Wang, Y., Huang, X., Peng, F., Han, H., Gu, Y., Liu, X., & Feng, Z. (2022). Association of variants m.T16172C and m.T16519C in whole mtDNA sequences with high altitude pulmonary edema in Han Chinese lowlanders. *BMC Pulmonary Medicine*, 22(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s12890-021-01791-1>.
- Wong, L.-P., Ong, R. T.-H., Poh, W.-T., Liu, X., Chen, P., Li, R., ... Teo, Y.-Y. (2013). Deep whole-genome sequencing of 100 southeast Asian Malays. *American Journal of Human Genetics*, 92(1), 52–66. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2012.12.005>.
- Xu, W., Chen, R., Hu, B., Zein, J. G., Liu, C., Comhair, S. A. A., ... Severe Asthma Research Program (SAR). (2019). Mitochondrial DNA Variation and Severe Asthma, (D), A2961–A2961. https://doi.org/10.1164/ajrccm-conference.2019.199.1_meetingabstracts.a2961.
- Yang Ai, S. S., Hsu, K., Herbert, C., Cheng, Z., Hunt, J., Lewis, C. R., & Thomas, P. S. (2013). Mitochondrial DNA mutations in exhaled breath condensate of patients with lung cancer. *Respiratory Medicine*, 107(6), 911–918. <https://doi.org/10.1016/j.rmed.2013.02.007>.
- Yang, I. V., Lozupone, C. A., & Schwartz, D. A. (2017). The environment, epigenome, and asthma. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 140(1), 14–23. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2017.05.011>.
- Yudhawati, R., & Krisdanti, D. P. A. (2019). Imunopatogenesis Asma. *Jurnal Respirasi*, 3(1), 26. <https://doi.org/10.20473/jr.v3-i.1.2017.26-33>.
- Zifa, E., Daniil, Z., Skoumi, E., Stavrou, M., Papadimitriou, K., Terzenidou, M., ... Mamuris, Z. (2012). Mitochondrial genetic background plays a role in increasing risk to asthma. *Molecular Biology Reports*, 39(4), 4697–4708. <https://doi.org/10.1007/s11033-011-1262-8>.