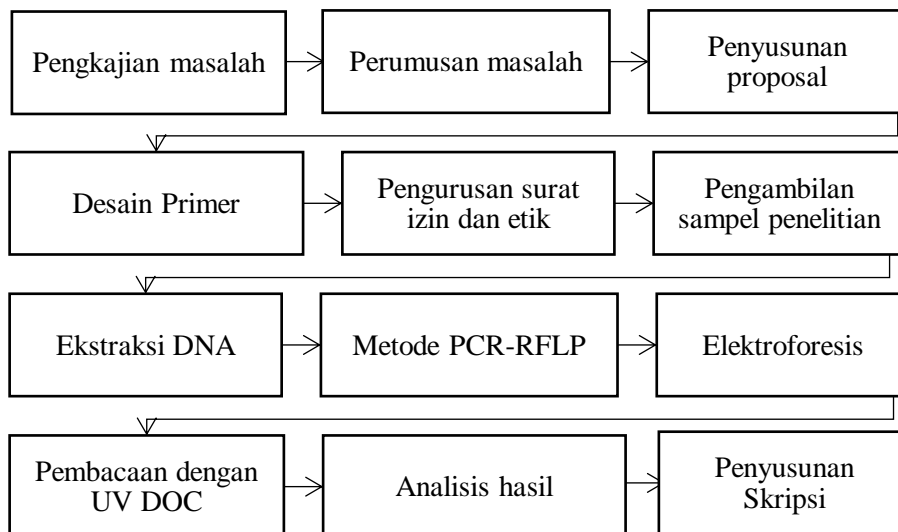


BAB IV
METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah kuantitatif dengan menggunakan desain penelitian deskriptif. Penelitian kuantitatif digunakan untuk meneliti suatu hal yang spesifik, jelas, rinci yang ditentukan secara mantap sejak awal, serta merupakan penelitian yang menyajikan data berupa angka sebagai hasil. Sedangkan rancangan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu desain penelitian deskriptif yang dimana metode dalam penelitian mengarah pada status kelompok manusia, suatu objek, suatu kondisi, suatu pemikiran, atau peristiwa pada saat ini. Penelitian ini digunakan untuk mengetahui polimorfisme gen *MTNR1B* terkait faktor resiko diabetes melitus tipe II pada kasus obesitas dengan menggunakan metode PCR-RFLP (Sugiyono, 2024).

B. Alur Penelitian



Gambar 2 Alur Penelitian

C. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat penelitian

Pengambilan sampel dilakukan di Poltekkes Kemenkes Denpasar tepatnya pada Jurusan Teknologi Laboratorium Medis. Sedangkan untuk pemeriksaan sampel penelitian dilaksanakan di Laboratorium Terpadu Poltekkes Kemenkes Denpasar Jl. Pulau Moyo No 33 Pedungan, Denpasar Selatan.

2. Waktu penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan dari bulan September 2024 sampai dengan bulan April 2025.

D. Populasi dan Sampel Penelitian

1. Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah mahasiswa yang berusia 18-21 tahun dengan $IMT \geq 25,0$ kg/m² pada wilayah Poltekkes Kemenkes Denpasar tepatnya di Jurusan Teknologi Laboratorium Medis.

2. Sampel

Sampel penelitian dalam penelitian ini yaitu sampel darah dari mahasiswa obesitas dan non-obesitas pada wilayah Poltekkes Kemenkes Denpasar tepatnya di Jurusan Teknologi Laboratorium Medis yang telah memenuhi kriteria yang telah ditetapkan peneliti.

a. Unit analisis

Unit analisis dalam penelitian ini adalah Gen *MTNR1B*, pada sampel darah mahasiswa obesitas dan non-obesitas, pada wilayah Poltekkes Kemenkes Denpasar tepatnya di Jurusan Teknologi Laboratorium Medis.

b. Besar sampel

Jumlah sampel yang digunakan sebesar 10 sampel obesitas dan 10 sampel non-obesitas pada wilayah Poltekkes Kemenkes Denpasar di Jurusan Teknologi Laboratorium Medis.

c. Teknik Pengambilan Sampel

Teknik pengambilan sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah Menggunakan metode *non-probability sampling*, metode sampling ini sering digunakan dalam situasi dimana populasi sulit dijangkau, sumber daya terbatas, atau penelitian dilakukan untuk tujuan eksploratif atau deskriptif dengan jenis sampling *aksidental* yang dimana teknik pengambilan sampel berdasarkan kebetulan, yaitu siapa saja yang secara kebetulan bertemu dengan peneliti dapat digunakan sebagai sampel, bila dipandang orang yang kebetulan ditemui itu cocok sebagai sumber data (Adiputra dkk., 2021), dengan kriteria, yaitu :

1) Kriteria Inklusi

- a) Mahasiswa yang bersedia menjadi responden dengan menandatangani *informed consent*
- b) Mahasiswa Poltekkes Denpasar di Jurusan Teknologi Laboratorium Medis
- c) Mahasiswa yang berusia 18-21 tahun
- d) Mahasiswa yang memiliki IMT $\geq 25,0$ kg/m² dan tidak terdiagnosis diabetes melitus tipe II serta penyakit sistemik lainnya.

2) Kriteria Eksklusi

- a) Mahasiswa yang merokok
- b) Mahasiswa yang pada saat pengambilan sampel sedang sakit

d. Alat dan Bahan

1) Alat

Thermal cycler, UV documentation (UV-DOC), elektroforator, vortex, spindown, centrifuge, incubator, mikrocentrifuge, refrigerator, laminar air flow, tempat limbah padat dan cair, erlenmeyer, beaker glass, gelas ukur, hotplate, magnetic stirrer dan rak tabung.

2) Bahan

Sampel *whole blood* EDTA pasien sebagai sumber DNA, *Wizard Genomic DNA Purification Kit* (Promega), *cell lysis solution, nuclei lysis solution, dna rehydration solution, protein precipitation solution, RNase A solution*, reagen PCR *master mix, taq 2x master mix, 25 mM MgCl₂*, sarung tangan, *primer forward 10 μM (5'- CAC TGC CAT CGC CAT TAAC C -3')*, *primer reverse 10 μM (5'- GGC CTT TCC TCA TTC TGT CCT T-3')*, PCR-grade H₂O, *template DNA, H₂O/NFW, enzim restriksi EcoRI, primer forward MC4R, primer reverse MC4R, microtube, yellow tip, blue tip, white tip, isopropanol, ethanol 70 %, NFW (nuclease free water), TAE (50X), TE buffer, loading dye, DNA ladder 100 bp, staining gel, bubuk agarose, aquadest, tissue dan shield/parafilm.*

e. Prosedur Kerja

1) Pra-Analitik

- a) Pemberian *informed consent* dan kuesioner kepada responden, dan setelah responden menyetujui untuk menjadi responden maka akan dilakukan prosedur pengambilan sampel.

b) Pengambilan sampel :

1. Melakukan cuci tangan dengan 6 langkah
2. Petugas memakai *handscoon* dan Petugas mengkonfirmasi identitas pasien seperti nama, usia, jenis kelamin dan mencatat data responden pada tabung darah EDTA
3. Petugas menyiapkan *sprit* 3 cc steril atau jarum *vacuntainer* ; Petugas menyiapkan Alkohol swab
4. Petugas menyiapkan *torniquet* dan menempatkan semua peralatan pada meja kerja
5. Petugas meminta pasien untuk meletakkan tangannya lurus di atas meja dengan telapak tangan menghadap ke atas
6. Petugas melakukan pembendungan lengan pasien dengan menggunakan tourniquet untuk membendung aliran darah
7. Petugas meminta pasien mengepal dan membuka tanganya beberapa kali untuk menguji pembuluh darah
8. Petugas melakukan *palpasi* lokasi pembuluh darah yang akan ditusuk dengan ujung telunjuk kiri, dalam keadaan tangan pasien mengepal
9. Petugas membersihkan lokasi pengambilan darah dengan kapas Alkohol 70% atau *alcohol swab* dengan arah melingkar kearah luar dan membiarkan kering
10. Petugas meregangkan kulit dengan jari telunjuk dan ibu jari kiri diatas pembuluh darah yang akan ditusuk kemudian, masukkan jarum dengan sisi miring menghadap ke atas membentuk sudut ± 25 derajat lalu menghisap darah pasien sesuai kebutuhan

11. Petugas membuka kepalan tangan pasien dan *tourniquet* diregangkan lalu hisap darah sesuai dengan kebutuhan pemeriksaan
12. Petugas mencabut *sputum* pelan – pelan dan meletakkan kapas alcohol dan menekan pada bekas tusukan dan ditutup dengan plesterin
13. Petugas mengambil darah dan dimasukkan kedalam tabung melalui dinding apabila pengambilan menggunakan spuit, sedangkan jika menggunakan jarum vacutainer tabung dimasukkan setelah darah terlihat pada indikator jarum dan darah ditampung sesuai volume kemudian tabung dilepas (Mojopanggung, 2017).

2) Analitik

a) Desain primer dengan analisis *in silico* :

1. diawali dengan pencarian gen *MTNR1B* dari *Genbank* pada website NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Sekuen gen yang digunakan sebagai *template* dicari pada *Genbank* dari NCBI dengan mengubah opsi pencarian dari "All databases" menjadi "gene", lalu ketik gen *MTNR1B*.
2. FASTA dari full genome atau sekuen dari gen yang didapat. Analisis *restriction site* dengan benchling (<https://www.benchling.com/>). Desain primer dibuat dengan sekuen yang memiliki perbedaan.
3. Primer didesain dan dianalisis menggunakan program Primer Express. Buka aplikasi primer express, tempelkan urutan DNA dari benchling, setelah didapatkan primer pada aplikasi primer experses selanjutnya tentukan lokasi primer yang akan mengagit daerah yang mengandung situs pemotongan *EcoRI* dan *AluI*.

4. Setelah mendapatkan primer yang diinginkan dengan hasil F 5'- CAC TGC CAT CGC CAT TAAC C -3', R 5'- GGC CTT TCC TCA TTC TGT CCT T-3', simpan primer dengan identitas primer forward dan reverse pada benchling.
 5. Spesifisitas primer diperiksa secara *in silico* menggunakan BLAST di web NCBI. Pengecekan spesifisitas dilakukan dengan mengunjungi (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>).
 6. Tempelkan pada kolom yang sudah tersedia kusus untuk primer *forward* dan *reverse*. Pilih *RefSeq Representative Genomes* untuk memastikan hasil spesifik pada database referensi. Pilih Homo sapiens agar pencarian terbatas pada genom manusia.
 7. Klik BLAST dan tunggu hasil analisis primer. Hasil akan menunjukkan apakah primer hanya menargetkan satu lokasi pada genom manusia atau memiliki hasil lain. Pastikan hanya ada satu produk amplifikasi utama dengan ukuran sesuai target dengan idealnya hanya ada 1 produk pada template target. Jika ada lebih dari satu produk, primer mungkin tidak spesifik dan harus didesain ulang.
 8. Setelah desain primer dikonfirmasi, primer forward dan reverse dapat dipesan ke vendor penyedia sintesis oligonukleotida (Melati, Nurjanah, dan Rahayu, 2022).
- f. Ekstraksi Sampel :
1. Proses Lisis Sel Darah Merah ; Tambahkan 900 μ L *Cell Lysis Solution* ke dalam tabung mikro 1,5 ml ; Tambahkan 300 μ L *whole blood* EDTA ; Inkubasi campuran pada suhu ruang selama 10 menit, bolak-balik tabung

- 2-3x selama inkubasi ; Sentrifugasi dengan kecepatan 13.000 – 16.000 x g selama 20 menit (suhu ruang) ; Buang supernatan tanpa mengganggu *pellet* putih yang terlihat. Tinggalkan residu cairan sekitar 10 – 20 uL.
2. Proses Lisis Nucleic ; Resuspensi *pellet* putih dengan vortex selama 10-15 detik hingga homogen ; Tambahkan 300 uL *Nucleic Lysis Solution* dan pipet 5-6x untuk melisiskan nucleic; Jika larutan sangat kental atau ada gumpalan, inkubasi pada 37°C agar homogen. Proses Penghilangan RNA ; Tambahkan 1,5 µL RNase Solution ke larutan inti, lalu inkubasi pada suhu 37°C selama 15 menit.
 3. Presipitasi Protein ; Tambahkan 100 uL Protein Precipitation ke larutan nucleic, vortex selama 10-20 detik ; Sentrifugasi 13.000 – 16.000 x g selama 3 menit (suhu ruang), pelet protein berwarna coklat gelap seharusnya terlihat. Presipitasi DNA ; Transfer supernatan (tanpa protein pelet) ke tabung mikro baru yang berisi 300 µl isopropanol, bolak-balik tabung secara perlahan hingga DNA membentuk massa putih berbentuk benang ; Sentrifugasi 13.000 – 16.000 x g selama 1 menit, DNA akan terlihat seperti pelet putih kecil di dasar tabung.
 4. Pencucian DNA ; Buang supernatan, lalu tambahkan 300 µl etanol 70% untuk mencuci pellet DNA ; Sentrifugasi kembali pada kecepatan 13,000×g selama 1 menit, lalu buang supernatan ; Buang etanol dengan hati-hati menggunakan mikropipet, pastikan pelet DNA tidak terhisap.
 5. Rehidrasi DNA ; Tambahkan 100 µL DNA *Rehydration Solution* ke pellet DNA ; Inkubasi pada suhu 65°C selama 1 jam atau diamkan semalaman

pada suhu ruang hingga DNA larut sepenuhnya (Promega Corporation, 2023).

g. *Mix* PCR :

1. Siapkan alat dan bahan yang akan digunakan di dalam *Laminar Air Flow (LAF)*. *Vortex* dan *centrifuge MyTaq™ One-Step RT-PCR Kit* setelah dicairkan ; Pastikan komponen reagen PCR *mix* mencair semua.
2. Kemudian pipet komponen reagen PCR *mix* ke dalam microtube 1,5 mL kecuali *template* DNA.
3. Total reaksi yang dibuat adalah 1 reaksi untuk 1 sampel. Jadi volume total reagen yang dibuat yakni 25 µL untuk 1 reaksi, dengan ketentuan untuk menambahkan komponen sebagai berikut :

Tabel 3
Komponen *Master Mix* PCR

<i>Component</i>	Volume (1X Reaksi)	Volume (12X Reaksi)
<i>2x MyTaq One-Step Mix</i>	12,5 µL	150 µL
<i>Forward Primer (10 µM)</i>	0,5 µL	6 µL
<i>Reverse Primer (10 µM)</i>	0,5 µL	6 µL
<i>Template RNA</i>	4 µL	48 µL
<i>PCR-grade H₂O</i>	7,5 µL	90 µL
Total Volume	25 µl	300 µL

(Sumber : Ampliqon PCR Enzym & Reagents, 2021)

4. Beri label kode sampel pada bagian tutup tabung PCR. Selanjutnya *spindown* agar reagen atau cairan yang ada di dinding tabung PCR turun ke dasar tabung.
5. Masukkan *template* DNA yang sesuai label kode sampel sebanyak 4 µL pada tabung PCR. Homogenkan, kemudian ditutup rapat untuk dilakukan

spindown Kembali ; Reagen *mix* PCR siap di *running* untuk pada alat *Thermal cycler*.

- h. Pembuatan Larutan *Buffer* TAE 50X (1X) ;
 1. Siapkan alat dan bahan yang akan digunakan untuk membuat *Buffer* TAE (1X) sebanyak 1000 ml.
 2. Tuangkan 20 ml larutan TAE dengan konsentrasi 50X pada gelas ukur 1000 ml.
 3. Tambahkan 980 ml *aquadest* atau sampai tanda batas 1000 ml, kemudian tuang ke dalam erlenmayer dan homogenkan dengan manual.
 4. Tutup Erlenmayer menggunakan *aluminium foil* dan beri label nama beserta tanggal pembuatannya. Larutan buffer TAE 1000 ml dengan konsentrasi 1X siap digunakan (Wahyuni, 2017).
- i. Pembuatan Gel Agarose 1,5 % :
 1. Siapkan alat dan bahan yang akan digunakan.
 2. Timbang bubuk agarose hingga 2,25 gram, masukkan ke dalam labu Erlenmeyer. Tambahkan 150 ml larutan buffer TAE pada labu erlenmeyer.
 3. Letakkan labu erlenmeyer di atas hotplate, kemudian nyalakan *hotplate* dengan menekan tombol ON.
 4. Letakkan *magnetic stirrer* ke dalam labu erlenmeyer, lalu atur suhu dan kecepatan sesuai yang diinginkan. Tunggu hingga larutan benar-benar bening.
 5. Setelah larutan bening, matikan *hotplate* dengan menekan tombol OFF dan pindahkan labu erlenmeyer ke atas meja, tunggu hingga larutan tidak terlalu panas.

6. Masukkan 4 µl pewarna gel *red*, kemudian homogenkan.
7. Tuang larutan agarose ke dalam cetakan, kemudian letakkan sisir sesuai tempatnya. Tunggu larutan hingga mengeras.
8. Setelah larutan agarose mengeras menjadi gel, lepaskan sisir pada gel agarose. Letakkan gel agarose pada elektroforator. Gel agarose 1,5% siap digunakan (Rumbiwati dan Trimuratno, 2021).

j. PCR- RFLP :

1. Masukkan ke dalam alat *Thermal cycler* hasil dari *PCR-Mix* yang telah dibuat sebelumnya, dengan ketentuan suhu sebagai berikut:

Tabel 4
Suhu *Thermal Cycler*

<i>Step</i>	<i>Time</i>	<i>Temperature</i>	<i>Cycle</i>
<i>Polymerase Activation</i>	5 menit	95°C	1X
Denaturasi	45 detik	95°C	35X
<i>Anneling</i>	45 detik	55°C	
<i>Extension</i>	60 detik	72°C	
<i>Final Extention</i>	5 menit	72°C	1X

(Sumber : Ampliqon PCR Enzym & Reagents, 2021)

2. Tunggu hingga selesai running.
3. Simpan hasil PCR pada suhu 4°C bila tidak langsung diproses.
4. Campurkan hasil amplifikasi PCR dengan enzim restriksi dan *buffer* enzim sesuai protokol pabrikan.
5. Inkubasi dengan suhu 37°C selama 2-24 jam.
6. Analisis hasil dengan elektroforesis (Nadila, 2019).

k. Elektroforesis :

1. Masukkan gel agarose pada elektroforator lalu tambahkan TAE ke dalam alat elektroforesis hingga menutupi gel agarose.
2. Siapkan *shield* untuk tempat menghomogenkan sampel dengan *loading dye*.
3. Ambil sampel ekstraksi DNA dengan mikropipet sebanyak 1 mikroliter kemudian taruh pada *shield*, lalu ambil kembali *loading dye* sebanyak 5 mikroliter dan campurkan ke dalam sampel ekstraksi DNA.
4. Homogenkan sampel dengan *loading dye* beberapa kali dengan menyedot dan mengeluarkan sample berulang.
5. Sedot sampel yang sudah dihomogenkan dengan mikropipet sebanyak 6 μ l, kemudian injeksikan kedalam sumuran gel *agarose*.
6. Lakukan prosedur tersebut berulang pada sampel lainnya, setelah semua terinjeksi ke dalam sumuran gel *agarose*, setting alat elektroforesis.
7. Tunggu selama 77 menit untuk proses elektroforesis, setelah 77 menit dan alat sudah berhenti beroperasi hasil dapat di baca di dalam UV DOC (FTTM IPB, 2018).

l. Pembacaan hasil di UV-DOC :

1. Sambungkan kabel alat *UV Documentation* pada stop kontak.
2. Nyalakan alat dengan menekan tombol ON.
3. Nyalakan lampu pada alat, lalu buka pintu alat *UV Documentation*.
4. Letakkan gel *agarose* yang telah ditiriskan pada bagian dalam alat, kemudian tutup kembali ; Matikan lampu pada alat dan nyalakan UV.
5. Setelah *UV Transluminator* dinyalakan, pita DNA akan berpendar.

6. Hasil dari proses elektroforesis tersebut dapat dilihat pada layar monitor yang terhubung dengan *UV Transluminator*.
7. Matikan lampu UV, kemudian hidupkan lampu untuk mengidentifikasi gel *agarose*, setelah melakukan proses pengamatan dan dokumentasi, matikan kembali lampu alat.
8. Buka pintu alat *UV Documentation*, lalu keluarkan gel *agarose*, lakukan desinfeksi pada bagian dalam alat menggunakan alkohol, tutup kembali pintu alat *UV Documentation*, matikan alat dengan menekan tombol *OFF* (Maharani dan Sumsanto, 2024)

3) Pasca analitik

- a) Amati hasil yang didapat dan dokumentasikan
- b) Melakukan pencucian alat yang digunakan
- c) Menyimpan sisa bahan yang telah dilakukan pemeriksaan
- d) Melakukan pembuangan limbah untuk limbah yang tidak akan digunakan lagi sesuai dengan *Standart Operational Procedure (SOP)* laboratorium yang berlaku dan dilakukan pengolahan limbah untuk limbah yang bisa digunakan kembali, contohnya apabila hendak menggunakan sisa limbah dari gel *agarose* dalam proses elektroforesis gel, limbah gel tersebut dapat digunakan kembali dengan cara daur ulang gel *agarose* dilakukan agar dapat digunakan kembali dalam elektroforesis, sehingga pemakaian *agarose* menjadi lebih efisien. Gel *agarose* yang sudah digunakan dipanaskan ulang menggunakan *microwave* dan kemudian dicetak ulang dengan penambahan pewarna, seperti *floro few*, sebagai pewarna DNA. Karena untaian DNA akan rusak pada suhu sekitar 190°C, diharapkan pemanasan tinggi dalam *microwave* dapat menghancurkan untaian

DNA pada gel agarose daur ulang. Dengan demikian, gel agarose baru yang dihasilkan siap digunakan kembali untuk elektroforesis tanpa mempengaruhi hasil analisis, apabila gel tersebut tidak akan digunakan lagi dapat dibuang ke tempat sampah jika tidak mengandung bahan berbahaya, tetapi jika mengandung *Etidium Bromida* (EtBr) atau pewarna lain yang beracun, harus dikumpulkan dalam wadah limbah B3 dan dikirim ke fasilitas pengolahan limbah laboratorium (Rumbiwati dan Trimuratno, 2021).

e) Melakukan analisis

E. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis data yang dikumpulkan

a. Data Primer

Data primer adalah sumber data langsung yang diberikan oleh narasumber kepada peneliti (Sugiyono, 2024). Data primer dalam penelitian ini dikumpulkan langsung dari subjek penelitian melalui observasi (umur, jenis kelamin, aktivitas fisik, pola makan, pola tidur, Riwayat keluarga yang menderita DM, dan IMT) dan hasil pemeriksaan gen *MTNR1B* dengan menggunakan metode PCR-RFLP.

b. Data Sekunder

Data sekunder yang digunakan dalam penelitian ini dikumpulkan dan bersumber dari penelitian-penelitian sebelumnya (jurnal, artikel, buku atau literatur yang terkait) (Sugiyono, 2024).

2. Cara pengumpulan data

Pengumpulan data pada penelitian ini dilakukan dengan cara wawancara terstruktur menggunakan kuisioner berisi nama, jenis kelamin, alamat, dan data

status kesehatan, karena peneliti telah mengetahui dengan tepat informasi yang akan diperolehnya dengan menyiapkan instrumen penelitian seperti pertanyaan tertulis yang sama dengan jawaban alternatif yang sudah disiapkan. Peneliti melakukan pengambilan darah vena pada responden menggunakan tabung EDTA sebanyak 3 cc yang kemudian dilakukan pemeriksaan pada laboratorium. Setelah dilakukan pemeriksaan di laboratorium, tahapan selanjutnya yaitu melakukan observasi terhadap hasil pemeriksaan berupa munculnya pita DNA pada hasil PCR yang telah dilakukan elektroforesis dan diperiksa dengan *UV-transluminator*, serta melakukan dokumentasi hasil pemeriksaan laboratorium berupa foto. Pada penelitian ini studi literatur digunakan untuk mengumpulkan data berupa sekuen gen dan pembuatan desain primer.

3. Instrumen pengumpulan data

Instrumen pengumpulan data yang digunakan dalam penelitian ini yaitu:

- a. Formulir *informed consent*, untuk mendapatkan persetujuan tertulis dari subjek penelitian
- b. Formulir kuesioner, untuk mendapatkan informasi dari subjek penelitian dalam menunjang penelitian yang dilakukan
- c. Alat tulis, untuk mencatat dan menulis saat melakukan pengumpulan data
- d. *Smartphone*, untuk mengambil dokumentasi dari kegiatan penelitian yang dilakukan, mulai dari pengambilan sampel dan pemeriksaan di laboratorium.

F. Pengolahan dan Analisis Data

1. Teknik pengolahan data

a. Editing

Editing adalah proses menganalisis dan menyempurnakan data yang telah didapatkan dari hasil wawancara atau pengamatan langsung agar lebih akurat dan sesuai, sehingga data dapat diproses lebih lanjut

b. Coding

Coding adalah proses melakukan klasifikasi atas jawaban-jawaban dari responden berdasarkan jenis data penelitian yang sudah terkumpul

c. Tabulasi

Proses menambahkan data yang sudah dikumpulkan selama penelitian dilakukan ke dalam format data seperti table-tabel yang sudah tersedia, data-data dari tabel yang digunakan dapat berbentuk data mentah maupun data yang digunakan untuk menghitung data tertentu secara spesifik.

2. Analisis data

a. Analisis Deskriptif

Analisis data yang digunakan adalah statistik deskriptif analisis ini digunakan untuk memberikan gambaran sehingga memungkinkan informasi dapat diambil secara sistematis dan jelas dari data tersebut. Statistik deskriptif, juga dikenal sebagai analisis univariat, dilakukan tergantung pada jenis data yang berupa kategorik dan numerik. Pada penelitian ini hasil yang didapatkan berupa gambaran adanya DNA gen *MTNR1B* pada sampel darah pasien. Hasil yang diperoleh disajikan berupa tabel.

Hasil yang didapatkan dari analisis polimorfisme gen *MTNR1B* sebagai faktor resiko kejadian diabetes melitus tipe 2 pada kasus obesitas menggunakan metode PCR-FLP adalah pemotongan yang dapat berupa fragmen DNA dengan ukuran yang berbeda-beda. (Erwanto dkk., 2012). Hasil pemotongan tersebut dapat dilihat dari potongan pita DNA pada elektroforesis, yang dimana apabila suatu individu memiliki pasangan alel yang sama, genotipe individu tersebut bergenotipe homozigot dan apabila pasangannya berbeda disebut heterozigot (Angria dan Susanti, 2024). Pada Alel homozigot atau mutan yang memiliki situs pemotongan, produk PCR akan terpotong oleh enzim restriksi tertentu (atau sebaliknya). Sementara itu, pada alel heterozigot, produk PCR yang dihasilkan merupakan kombinasi antara fragmen yang terpotong dan yang tidak terpotong (Puspitaningrum, Adhiyanto, dan Solihin, 2018).

G. Etika Penelitian

Pedoman etika yang digunakan dalam pelaksanaan penelitian ini yaitu (Adiputra dkk., 2021):

1. Menghormati atau Menghargai Subjek (*Respect For Person*)

Peneliti menghormati martabat manusia, hak otonomi, serta keberagaman nilai budaya, dan menjaga kerahasiaan subjek penelitian, oleh karena itu kemungkinan risiko dan penyalahgunaan penelitian harus dipertimbangkan secara cermat oleh para peneliti, serta subjek penelitian yang rentan terhadap bahaya penelitian harus dilindungi.

2. Manfaat (*Beneficence*)

Diharapkan bahwa penelitian akan meminimalkan risiko maupun kerugian bagi responden penelitian sekaligus menghasilkan hasil yang bermanfaat yang dapat dicapai. Oleh karena itu, keselamatan dan kesejahteraan partisipan penelitian harus dipertimbangkan dalam penelitian.

3. Tidak Membahayakan Subjek Penelitian (*Non-Maleficence*)

Penelitian harus dilakukan dengan meminimalkan potensi risiko maupun dampak merugikan bagi partisipan. Peneliti perlu mengantisipasi berbagai kemungkinan yang dapat menimbulkan ketidaknyamanan atau bahaya selama proses penelitian, agar partisipan tetap berada dalam kondisi aman.

4. Keadilan (*Justice*)

Dalam hal ini, keadilan tidak berarti membedakan subjek. Perlu disebutkan bahwa kelebihan dan kekurangan penelitian tersebut seimbang. Bahayanya sesuai dengan apa yang dianggap sehat yang meliputi aspek sosial, mental, dan fisik.

5. Kerahasiaan (*Confidentiality*)

Dengan tidak menyertakan identitas responden dalam kuesioner dan menyimpan data agar tidak ada orang lain yang dapat mengaksesnya, peneliti akan memastikan bahwa informasi yang dikumpulkan dari responden tetap terjaga kerahasiaannya. Informasi yang dikumpulkan oleh peneliti digunakan secara eksklusif untuk penelitian dan tidak pernah dibagikan kepada pihak luar.

6. Lembar persetujuan (*Obtaining informed consent*)

Informing consent merupakan persetujuan responden untuk ikut serta dalam penelitian setelah mendapat informasi dari peneliti, pemberian informasi merupakan proses mengomunikasikan gagasan dan isi penelitian kepada responden.