



Review: Mutasi DNA Mitokondria Penyebab Penyakit Mitokondria dan Diagnosis Mekanisme Molekulernya melalui Pendekatan *In Silico*

Topan Setiawan^{1,2*}, Iman Permana Maksum¹, Muhammad Yusuf^{1,3}

¹Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjadjaran, Sumedang, Jawa Barat, 45363

²Pendidikan Kimia, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Khairun, Ternate, Maluku Utara, 97719

³Pusat Riset Bioteknologi dan Bioinformatika Universitas Padjadjaran, Bandung, Jawa Barat, 40132

*Alamat email penulis koresponden: topan@unkhair.ac.id

Abstrak

Mitokondria, organel sel yang menghasilkan energi dalam bentuk ATP melalui sistem respirasi, memiliki DNA tersendiri (mtDNA) yang rentan terhadap mutasi karena tingginya laju replikasi. Mutasi pada mtDNA dapat menyebabkan penyakit mitokondria. Kajian ini merinci karakteristik mutasi mtDNA, penyakit mitokondria, dan kajian *in silico* mutasi tersebut. Disfungsi mitokondria dipicu oleh serangan radikal bebas dan mutasi mtDNA, yang dapat mengakibatkan penurunan produksi ATP dan kerusakan oksidatif pada mitokondria. Penyakit mitokondria seperti diabetes, MELAS, LHON, MERRF, dan MIDD disebabkan oleh mutasi spesifik pada mtDNA. Penelitian *in silico* menggunakan simulasi dinamika molekuler, seperti mutasi T15663C dan A3243G serta mutasi lainnya yang dibahas pada kajian ini, membantu memahami dampak mutasi pada struktur dan fungsi mtDNA. Kajian tentang mutasi mtDNA yang terus berkembang penting untuk pengembangan metode diagnostik dan terapeutik. Simulasi penelitian menggunakan metode *in silico* diharapkan dapat menjadi alat diagnostik untuk mutasi yang terkait dengan sistem transfer elektron dan translokasi proton dalam penyakit mitokondria.

Kata kunci: In silico, DNA Mitokondria, Mutasi, Penyakit Mitokondria

PENDAHULUAN

Penyakit mitokondria adalah kelompok penyakit akibat penurunan fungsi atau bahkan disfungsi mitokondria, organel sel yang bertanggung jawab atas produksi energi seluler. Penyakit mitokondria dapat memiliki gejala yang bervariasi dan muncul pada berbagai organ dan sistem tubuh. Gejala umum meliputi gangguan neurologis, gangguan otot, gangguan pencernaan, gangguan penglihatan, gangguan jantung, dan gangguan sistem saraf pusat. Penyakit mitokondria seringkali sulit untuk didiagnosis karena gejalanya yang beragam dan serupa dengan banyak kondisi lain (Russell *et al.*, 2020; Schapira, 2006).

Salah satu penyebab penyakit mitokondria adalah adanya mutasi DNA mitokondria (Kim *et al.*, 2011; Wei & Lee, 2003). DNA mitokondria mengandung sejumlah gen yang mengodekan protein-protein penting yang terlibat dalam proses produksi energi adenosin trifosfat (ATP) dalam proses rantai respirasi. Mutasi dalam gen-gen ini dapat mengubah struktur atau fungsi protein-protein tersebut. Mutasi dalam gen mitokondria dapat

menghambat atau merusak rantai respirasi, mengganggu produksi ATP, dan mengurangi ketersediaan energi bagi sel (Pieczenik & Neustadt, 2007). Kekurangan energi seluler yang disebabkan oleh gangguan mitokondria dapat memiliki dampak jangka panjang pada berbagai organ dan sistem tubuh. Organ-organ yang memerlukan energi tinggi, seperti otak, otot, dan jantung, sering kali terpengaruh dengan signifikan (Annesley & Fisher, 2019).

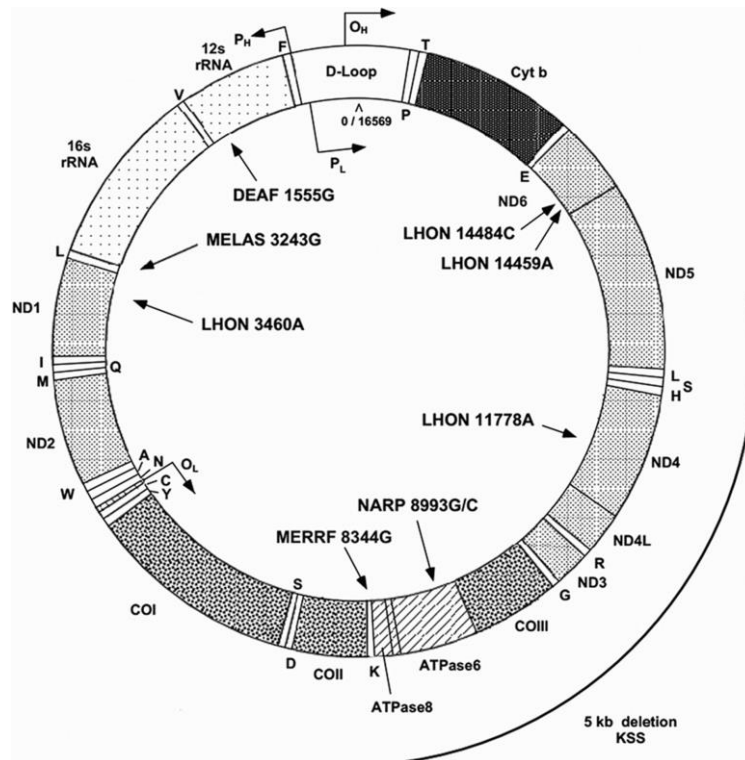
Sampai saat ini, manajemen diagnostik tingkat molekul masih kurang dilakukan. Hal ini dikarenakan kompleksitas DNA mitokondria serta variabilitas fenotipe penyakit yang diekspresikannya menyebabkan belum ditemukan manajemen terapi yang efektif (Yarham *et al.*, 2010). Keterlibatan dari banyak sistem organ yang berbeda menunjukkan bahwa terapi yang efektif untuk satu organ, masih memungkinkan perkembangan penyakit pada organ lainnya (Gorman *et al.*, 2016).

Informasi mengenai mekanisme molekular pengaruh mutasi sangat penting untuk digunakan dalam pengembangan metode diagnostik maupun terapeutik (Binder, 2017; Csősz *et al.*, 2017). Kajian secara molekular pada tingkat atomik untuk mengungkap mekanisme molekular dan interaksi yang terjadi dapat dilakukan dengan kajian in-silico berupa simulasi dinamika molekular (MD). Metode ini mampu mengungkap interaksi suatu sistem pada resolusi spatiotemporal yang tidak dapat dilakukan oleh metode lain (Rovcanin *et al.*, 2020).

GENOM MITOKONDRIA

DNA mitokondria memiliki 37 gen yaitu 2 gen rRNA (1 gen rRNA 12S dan 1 gen rRNA 16S), 22 gen tRNA (1 gen untuk masing-masing asam amino berjumlah 20 dan tambahan 1 gen tRNA^{Leu} serta 1 gen tRNA^{Ser}), dan 13 gen yang mengkode protein dari 78 protein yang berperan dalam proses respirasi. 13 gen yang dimaksud adalah 7 gen yang mengkode subunit kompleks I NADH Dehidrogenase (ND1 hingga ND6), 1 gen yang mengkode subunit kompleks III sitokrom b, 3 gen yang mengkode subunit kompleks IV sitokrom oksidase (COI, COII, dan COIII), dan 2 gen yang mengkode subunit kompleks V ATP Sintase yaitu ATP6 dan ATP8 (Annesley & Fisher, 2019).

Selain daerah gen pengkode, terdapat juga daerah pengontrol pada mtDNA yang tidak mengkode protein apapun (*non coding region*). Daerah tersebut disebut sebagai *displacement loop* (D-loop). D-loop merupakan struktur beruntai tiga (*triple stranded*) yang terdiri dari 1.122 pasang basa (16024-00575). D-loop mempunyai titik asal replikasi rantai H (O_H) dan 2 promotor utama untuk untai H dan L (P_H dan P_L). Transkripsi MtDNA diinisiasi dari dua promotor yang ada di daerah D-loop yaitu P_H dan P_L, transkripsi berjalan mengelilingi mtDNA sehingga membentuk RNA yang polisistronik (Susmiarsih, 2010).



Gambar 1 Genom mitokondria manusia. Rantai bagian luar adalah rantai H (Heavy Chain) dan rantai bagian dalam adalah rantai L (Light Chain) (Anderson *et al.*, 1981). Gen-gen mtDNA yaitu ND, CO, sitokrom oksidase, sitokrom b (cyt b), ATP sintatase, dua rRNA 12S dan 16s, tRNA (Kogelnik, 1996).

D-loop merupakan daerah kontrol utama ekspresi mtDNA dan berfungsi sebagai promotor utama transkripsi (Li *et al.*, 2016). Di daerah D-loop terdapat dua daerah yang sangat bervariasi yaitu *hypervariable region 1* (HVR1) dan *hypervariable region 2* (HVR2) (Satiyarti dkk., 2020). Daerah ini tidak menyandi gen tertentu, namun telah diketahui berperan penting pada studi populasi (Nicholls & Minczuk, 2014).

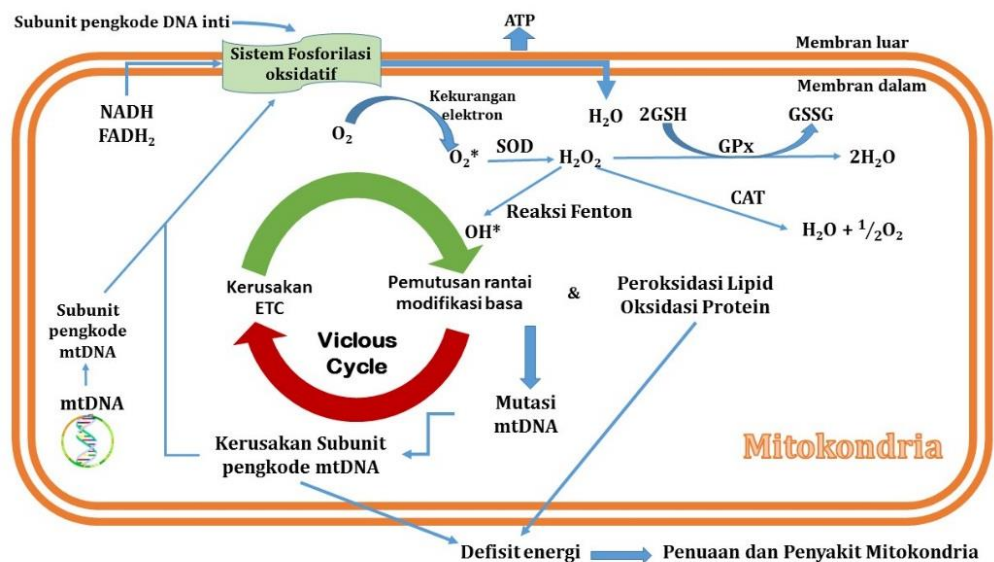
Salah satu karakteristik dari mtDNA adalah memiliki laju replikasi yang tinggi. Laju replikasi tersebut menyebabkan mtDNA rentan terserang oleh radikal bebas (Pieczenik & Neustadt, 2007). Akibat gangguan dari luar berupa radikal bebas tersebut, matriks mitokondria banyak menghasilkan mutagen selama proses fosforilasi oksidatif dan transfer elektron. DNA mitokondria yang tidak memiliki histon menyebabkan ia tidak terlindungi dari pembentukan mutagen. kesalahan replikasi tidak dapat diperbaiki karena DNA polimerase γ tidak mempunyai aktivitas *proofreading* untuk mengoreksi kesalahan replikasi tersebut (Satiyarti dkk., 2020). Hal ini menyebabkan laju mutasi mtDNA sangat tinggi Laju mutasi mtDNA 10-17 kali laju DNA inti (Taylor & Turnbull, 2005).

Mutasi baik di mtDNA ataupun di DNA inti akan menyebabkan kelainan dan disfungsi pada mitokondria. Kelainan dan disfungsi mitokondria menyebabkan penyakit mitokondria. Penyakit mitokondria yang disebabkan mutasi secara spesifik dijelaskan sebagai suatu penyakit yang mengganggu sistem fosforilasi oksidatif (Taylor & Turnbull, 2005). Meskipun penyakit mitokondria disebabkan mutasi mtDNA yang tinggi,

kerumitan tersebut relatif mudah diamati karena ukuran mtDNA yang kecil (DeBalsi *et al.*, 2017).

PENYAKIT MITOKONDRIA

Penyakit mitokondria merupakan kelainan mitokondria yang disebabkan perubahan struktur dan fungsi mitokondria. Disfungsi ini disebabkan oleh penurunan fungsi kompleks enzim respirasi dan menghambat reaksi fosforilasi oksidatif (OXPHOS) dalam pembentukan ATP. Selain itu, disfungsi mitokondria juga disebabkan adanya serangan radikal bebas *reactive oxygen species* (ROS) pada berbagai jaringan (Kim *et al.*, 2011; Wei & Lee, 2003). Sebagian oksigen yang masuk ke dalam sel, dipakai oleh mitokondria untuk diubah menjadi spesi oksigen reaktif atau ROS. ROS akan ditangkap oleh mekanisme pertahanan antioksidan. Mekanisme pertahanan tersebut diantaranya enzim superoksida dismutase (SOD), glutasi peroksidase (GPx) dan katalase (CAT).



Gambar 2 Siklus radikal bebas pada penyakit mitokondria (Maksum, 2018). Penuaan terjadi karena adanya penurunan yang signifikan terhadap fungsi bioenergetika sel. Penuaan dan penyakit mitokondria akan terbentuk pada jaringan yang terserang oleh ROS (Wei & Lee, 2003).

Selain itu, mekanisme pertahanan tersebut dibantu dengan molekul antioksidan seperti vitamin C dan vitamin E (Bhatti *et al.*, 2017). Dalam kondisi normal, ROS yang berlebih dibatasi dalam mitokondria untuk melindungi organel sel dari serangan oksidasi melalui reaksi enzimatik maupun nonenzimatik. Di sisi lain, jika mekanisme pertahanan tidak mampu lagi menangani kelebihan ROS maka ROS akan menyerang protein, DNA dan lipid di dalam mitokondria (Beckman & Ames, 1999).

ROS berlebih merusak fungsi enzim dalam rantai respirasi seperti pemutusan rantai dan modifikasi basa. Selain itu, ROS yang menyerang mtDNA menyebabkan mtDNA mengalami mutasi yang kemudian akan ditranslasi dan transkripsi menjadi protein tidak normal. Protein tidak normal tersebut berpartisipasi dalam sistem transport elektron

(ETC) dan juga membuatnya menjadi tidak normal. Proses tersebut bukan hanya menyebabkan berkurangnya sintesis ATP tetapi juga akan menghasilkan lebih banyak ROS dan meningkatkan kerusakan oksidatif pada biomolekul lain di dalam mitokondria. Pada akhirnya, proses ini menyebabkan disfungsi mitokondria, mengurangi biogenesis mitokondria dan berbagai kondisi patologis seperti penuaan, berbagai penyakit metabolik, dan gangguan neurodegeneratif (Ide *et al.*, 1999; James & Murphy, 2002).

Disfungsi mitokondria terjadi di berbagai jaringan. Jaringan yang mengalami disfungsi mitokondria di antaranya jaringan neuromuskular yang menyebabkan penyakit demensia, ataksia, miopati, dan lainnya. Jika disfungsi mitokondria terjadi di jantung maka akan menyebabkan kardiomiopati sedangkan jika terjadi di sel pankreas maka akan menyebabkan penyakit diabetes melitus (Russell *et al.*, 2020). Beberapa penyakit mitokondria adalah sebagai berikut.

MELAS. *Mitochondrial Encephalopathy, Lactic Acidosis, and Stroke-like Episodes* (MELAS) merupakan penyakit gangguan metabolisme dalam mitokondria. Gejala MELAS ditandai dengan penumpukan asam laktat, sakit kepala disertai mual dan muntah yang mirip dengan migrain, epilepsi, dan *stroke-like episodes* (Tetsuka *et al.*, 2021). Gejala lain yang biasa ditunjukkan adalah gangguan penglihatan hingga kebutaan sebagian akibat adanya kerusakan pada jaringan otak yang berkaitan dengan penglihatan (Fan *et al.*, 2021).

Penyebab MELAS belum dipahami secara lengkap sampai saat ini. Saat ini ada total 63 mutasi mtDNA yang berkaitan dengan fenotip MELAS. 14 mutasi terletak di gen pengode polipeptida dan 12 lainnya terletak di gen pengode tRNA dan rRNA. Titik mutasi terbanyak terjadi pada ND5 (11 mutasi), tRNA (10 mutasi) dan ND1 (9 mutasi) (<https://www.mitomap.org>, 2023).

LHON. Leber's Hereditary Optic Neuropathy (LHON) merupakan penyakit dengan karakteristik gangguan pusat penglihatan subakut dan akut (Devi *et al.*, 2021; Engvall *et al.*, 2021). LHON muncul akibat kerusakan pada sel ganglia retina dan aksornya. Penyebab LHON akibat adanya mutasi pada mtDNA. Saat ini mutasi yang dilaporkan ada sekitar 152 mutasi, 14 diantaranya terjadi pada gen pengkode tRNA dan rRNA dan 138 lainnya terjadi pada gen pengkode polipeptida (<https://www.mitomap.org>, 2023).

MERRF. Myoclonic Epilepsy and Ragged Red Fibres (MERRF) merupakan penyakit mitokondria multisistem dengan gejala awal berupa myoclonus yang kemudian diikuti dengan gejala lain seperti ataksia, epilepsi, lemah dan demensia serta *ragged red fibers* pada biopsi otot (Finsterer, 2019). Saat ini MERRF diketahui disebabkan karena adanya mutasi mtDNA yaitu pada gen pengkode tRNA sebanyak 12 mutasi. Mutasi tRNA^{Leu} merupakan mutasi yang paling banyak terjadi sekitar 50% dari seluruh mutasi penyebab MERRF (<https://www.mitomap.org>, 2023).

MIDD. Maternally Inherited Diabetes and Deafness (MIDD) merupakan salah satu penyakit mitokondria yang juga disebabkan karena adanya mutasi pada DNA mitokondria. Salah satu tipe penyakit ini adalah diabetes melitus. Mutasi DNA mitokondria sangat mungkin menjadi penyebab penyakit diabetes melitus. Diabetes melitus berhubungan erat dengan sekresi insulin di sel β -pankreas sebagai respon

terhadap masuknya glukosa dan nutrien lain. Mutasi gen mitokondria dapat merusak produksi ATP sehingga menghambat sekresi insulin (Ding *et al.*, 2021; Wahid, 2020).

MUTASI DNA MITOKONDRIA

DNA mitokondria memiliki laju mutasi yang tinggi jika dibandingkan dengan DNA inti (Dabravolski *et al.*, 2022). Ada beberapa penjelasan yang mengarah ke mekanisme mutasi tersebut. Pertama, ROS saat ini dipastikan sebagai faktor utama mutasi mtDNA. Akumulasi mutasi lebih lanjut menyebabkan disfungsi mitokondria yang lebih parah dan bahkan produksi ROS yang lebih tinggi, sehingga membentuk suatu lingkaran setan (Kowalska *et al.*, 2020). Kedua, sistem perbaikan DNA mitokondria tidak begitu efisien dibandingkan dengan sistem DNA inti (DeBalsi *et al.*, 2017). Selain itu, mtDNA tidak dilindungi oleh protein histon, sehingga lebih mudah diserang oleh radikal bebas. Akhirnya, mutasi pada polimerase γ (POLG), yang bertanggung jawab untuk replikasi mtDNA adalah penyebab dari gangguan mitokondria yang dapat diwariskan (Rahman & Copeland, 2019).

Kajian tentang mutasi DNA mitokondria yang tinggi ini cukup rumit tetapi mudah diamati karena ukuran mtDNA yang pendek. Perkembangan mutasi mtDNA dapat dilihat pada bank data MITOMAP beserta penyakit mitokondria. Pada bank data MITOMAP menunjukkan jumlah mutasi yang terjadi di gen pengkode polipeptida, tRNA, dan *noncoding region*.

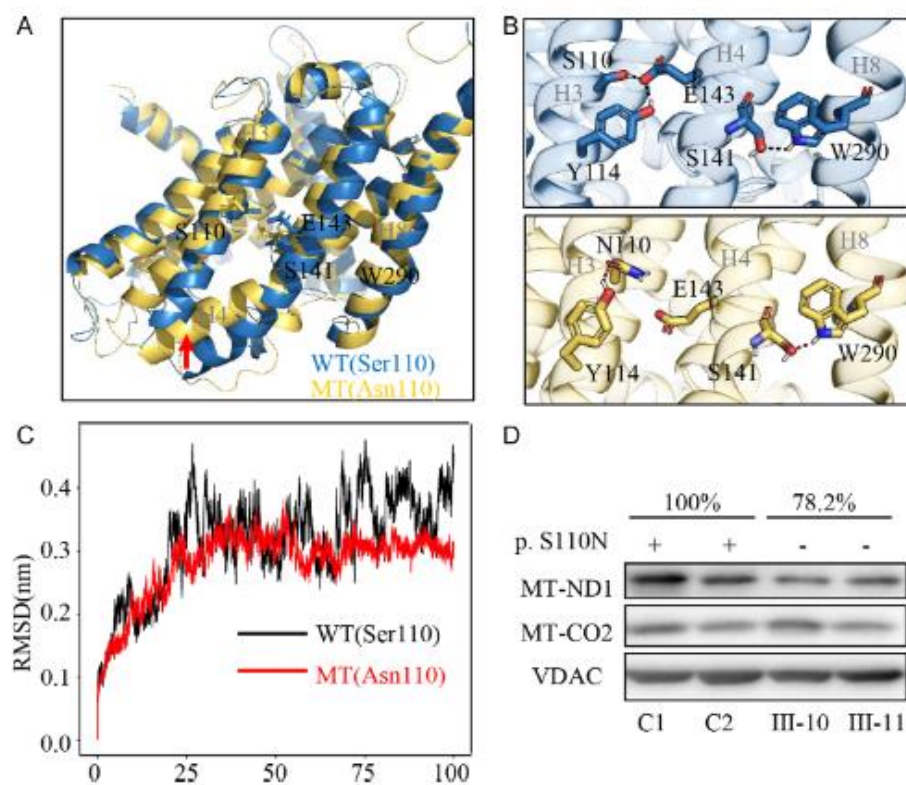
Salah satu mutasi yang terjadi pada gen pengkode subunit ND1 adalah mutasi titik G3316A. Mutasi ini terjadi pada nukleotida 3316 dengan perubahan posisi G menjadi A. Perubahan ini sangat signifikan karena merubah kode genetik GCC yang mengkode asam amino alanin menjadi ACC yang mengkode asam amino treonin. Perubahan asam amino pada subunit ND1 akan mengganggu ikatan antara sisi pengikatan Flavin Mononukleotida (FMN) dengan asam amino didekatnya, sehingga FMN akan mudah lepas. Akibatnya, akan mengganggu aktivitas FMN dalam membawa elektron untuk mereduksi ubiquinol menjadi ubiquinon. Selain itu juga akan mengganggu fungsi FMN sebagai pembawa proton untuk sintesis ATP (Maksum, 2020). Mutasi G3316A juga ditemukan pada penderita katarak (Maksum *et al.*, 2010). Mutasi ini juga akan menyebabkan berkurangnya sintesis ATP yang dapat mengganggu fungsi sel dan juga lensa mata. Kejernihan lensa mata tidak dapat dipertahankan karena kurangnya ATP untuk mengembalikan protein yang terdenaturasi ke keadaan normalnya (Bagchi *et al.*, 2002; Horwitz, 2003).

Selain mutasi di ND1, masih banyak lagi mutasi yang telah dikonfirmasi menyebabkan berbagai penyakit. Contoh mutasi terjadi beserta fenotipnya diantaranya titik G3959A (Lin *et al.*, 2014) dan G3946A (Danhelovska *et al.*, 2020) yang dapat menyebabkan penyakit *Mitochondrial Encephalopathy, Lactic Acidosis, and Stroke-like Episodes* (MELAS), T10609C dan C10676G yang dapat menyebabkan penyakit diabetes melitus (Destiarani *et al.*, 2020), T3271C (Bulduk *et al.*, 2020) dan A8315C (Štufková *et al.*, 2022) yang dapat menyebabkan penyakit *Myoclonic Epilepsy and Ragged Red Fibres*

(MERRF), A3243G (Maksum *et al.*, 2013) dan T12338C (Jiang *et al.*, 2022) yang dapat menyebabkan penyakit *Maternally Inherited Diabetes and Deafness* (MIDD).

KAJIAN INSILICO MUTASI DNA MITOKONDRIA

Informasi mengenai mekanisme molekular pengaruh mutasi sangat penting untuk digunakan dalam pengembangan metode diagnostik maupun terapeutik (Binder, 2017; Csősz *et al.*, 2017). Kajian secara molekular pada tingkat atomik untuk mengungkap mekanisme molekular dan interaksi yang terjadi dapat dilakukan dengan kajian in-silico berupa simulasi dinamika molekul (MD). Metode ini mampu mengungkap interaksi suatu sistem pada resolusi spatiotemporal yang tidak dapat dilakukan oleh metode lain (Rovcanin *et al.*, 2020).

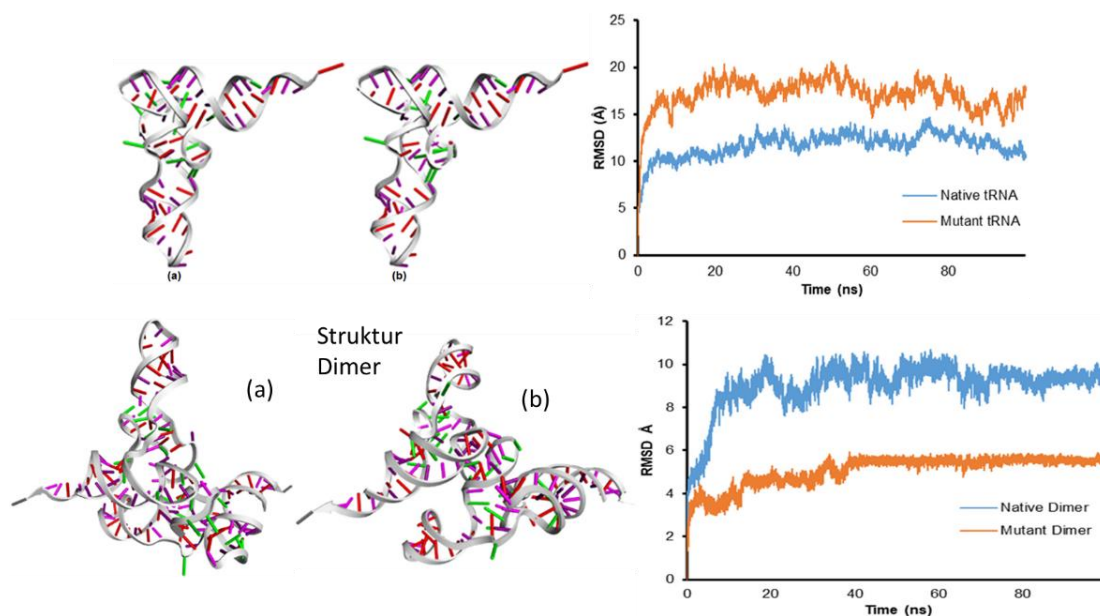


Gambar 3 Simulasi MD untuk mutasi G3635A yang terjadi pada mtND1 Perubahan dalam struktur dan stabilitas ND1. (A) struktur protein *wild-type* (S110, biru) dan mutan (N110, kuning) pada akhir simulasi. (B) Interaksi elektrostatik yang terbentuk antara Ser110 dan Glu143 pada protein *wild-type* (biru) dan antara Asn110 dan Tyr114 pada protein mutan (kuning). (C) Perkembangan waktu nilai RMSD dari semua atom C α untuk protein *Wild-Type* (garis hitam) dan protein mutan (garis merah). (D) Analisis Western blot.

Kajian *in silico* telah dilakukan untuk mutasi titik G3635A. Mutasi ini terjadi pada gen pengkode ND1. Mutasi ini ditemukan pada penderita LHON. Secara in-silico

ditemukan bahwa perubahan G ke A pada posisi 3635 menyebabkan mengubah struktur dan fungsi ND1 dan akhirnya menyebabkan penurunan fungsi subunit kompleks I (Jin *et al.*, 2021).

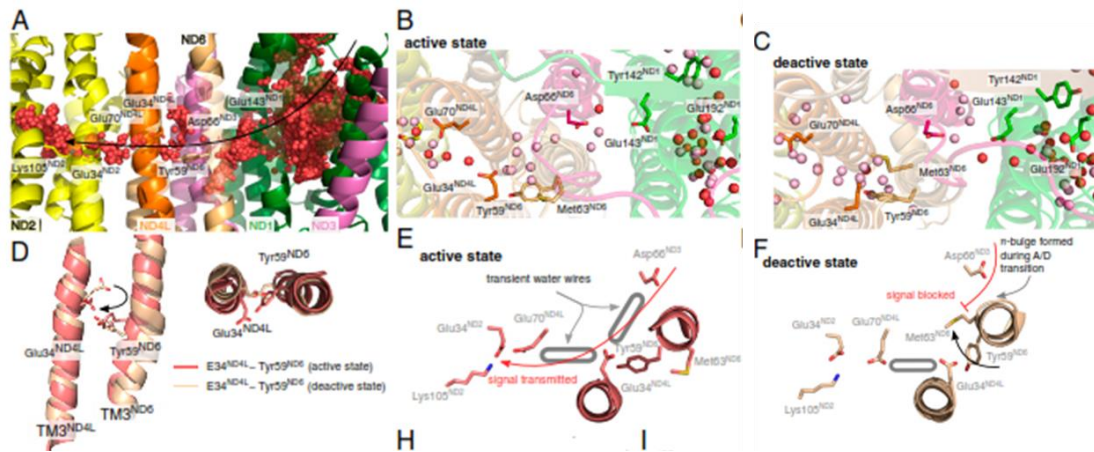
Kajian *in-silico* juga sudah dilakukan untuk mutasi titik A3243G. Mutasi ini terjadi pada gen pengkode tRNA^{Leu(UUR)}. Mutasi ini ditemukan pada penderita diabetes. Secara *in-silico* ditemukan bahwa perubahan A ke G pada posisi 3243 menyebabkan tRNA^{Leu} membentuk suatu dimer. Bentuk dimer ini diduga akan mempengaruhi proses aminosilasi sehingga membentuk suatu protein prematur (Maksum *et al.*, 2022).



Gambar 4 Simulasi Dinamika Molekul mutasi titik A3243G (a) struktur natif dan (b) struktur mutan

Kajian *in silico* mutasi T15663C juga telah dilakukan dan diperoleh hasil bahwa mutasi menurunkan stabilitas struktur cytb. Selain itu, mutasi ini mempengaruhi interaksi antara residu histidin dan Fe-heme yang terkait dengan fungsi transfer elektron sehingga menghambat transfer elektron heme pada rantai respirasi kompleks III dan menyebabkan defisiensi ATP, yang berhubungan dengan kegagalan sekresi insulin pada sel β -pankreas dan penurunan fungsi renaturasi protein pada lensa (Maksum, 2020).

Dari beberapa kajian *in-silico* mutasi DNA mitokondria masih belum banyak membahas hingga tingkat pengaruhnya terhadap transfer elektron. Padahal proses transfer elektron adalah jalur utama dalam rantai respirasi untuk menghasilkan ATP dalam mitokondria (Hahn & Zuryn, 2019). Penyebab hal ini adalah ukuran protein yang sangat besar sehingga kurang memungkinkan jika dilakukan simulasi mekanika kuantum. Salah satu solusi untuk mengatasi masalah tersebut adalah dengan menggunakan metode hybrid antara mekanika kuantum dan mekanika molekuler atau dikenal dengan metode *Quantum Mechanics/Molecular Mechanics* (QM/MM) (Groenhof, 2013).



Gambar 5 Simulasi QM/MM proses deaktivasi kompleks I mitokondria.

Simulasi dengan metode QM/MM untuk kompleks I pernah dilakukan untuk jenis protein *wild type*. Penelitian tersebut menyelidiki tentang perbedaan protein dalam kondisi aktif dan tidak aktif. Kondisi tidak aktif disebabkan karena adanya perubahan konformasi subunit ND1, ND3 dan ND6. Hasil simulasi menunjukkan bahwa pada kondisi aktif, terjadi proses transfer elektron antara dua residu asam amino Asp66ND3 dan Glu34ND4L. Reaksi transfer proton ini dihalangi ketika pada kondisi tidak aktif, karena adanya perubahan rotasi heliks TM3ND6 yang mencegah konektivitas protonik antara Asp66ND3 dan Glu34ND4L (Röpke *et al.*, 2021).

KESIMPULAN

Metode insiliko dapat memberikan informasi mekanisme molekular suatu mutasi terhadap suatu penyakit. Informasi mengenai mekanisme molekular pengaruh mutasi sangat penting untuk digunakan dalam pengembangan metode diagnostik maupun terapeutik. Metode ini mampu mengungkap interaksi suatu sistem pada resolusi spatiotemporal yang tidak dapat dilakukan oleh metode lain.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis berterima kasih kepada Perpustakaan Pusat Universitas Padjadjaran yang telah menyediakan bahan literasi dalam penelitian ini, dan juga berterima kasih kepada Universitas Padjadjaran yang telah mendukung untuk semua fasilitas penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Anderson, S., Bankier, A., Barrell, B., Bruijin, M., Coulson, A., & Drouin, J. (1981). Sequence and Organiation of The Human Mitochondrial Genom. *Nature*. 290: 457–465.
- Annesley, S. J., & Fisher, P. R. (2019). Mitochondria in Health and Disease. *Cells*. 8(7): 680.
- Bagchi, M., Katar, M., & Maisel, H. (2002). Heat shock proteins of adult and embryonic human ocular lenses. *Journal of Cellular Biochemistry*. 84(2): 278–284.

- Beckman, K. B., & Ames, B. N. (1999). Endogenous oxidative damage of mtDNA. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. 424(1–2): 51–58.
- Bhatti, J. S., Bhatti, G. K., & Reddy, P. H. (2017). Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in metabolic disorders—A step towards mitochondria based therapeutic strategies. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*. 1863(5): 1066–1077.
- Binder, E. B. (2017). Dissecting the molecular mechanisms of gene x environment interactions: Implications for diagnosis and treatment of stress-related psychiatric disorders. *European Journal of Psychotraumatology*. 8(sup5): 1412745.
- Bulduk, B. K., Kiliç, H. B., Bekircan-Kurt, C. E., Haliloğlu, G., Erdem Özdamar, S., Topaloğlu, H., & Kocaefe, Y. Ç. (2020). A Novel Amplification-Refractory Mutation System-PCR Strategy to Screen *MT-TL1* Pathogenic Variants in Patient Repositories. *Genetic Testing and Molecular Biomarkers*. 24(3): 165–170.
- Csősz, É., Deák, E., Kalló, G., Csutak, A., & Tőzsér, J. (2017). Diabetic retinopathy: Proteomic approaches to help the differential diagnosis and to understand the underlying molecular mechanisms. *Journal of Proteomics*. 150: 351–358.
- Dabravolski, S. A., Khotina, V. A., Sukhorukov, V. N., Kalmykov, V. A., Mikhaleva, L. M., & Orekhov, A. N. (2022). The Role of Mitochondrial DNA Mutations in Cardiovascular Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*. 23(2): 952.
- Danhelovska, T., Kolarova, H., Zeman, J., Hansikova, H., Vaneckova, M., Lambert, L., Kucerova-Vidrova, V., Berankova, K., Honzik, T., & Tesarova, M. (2020). Multisystem mitochondrial diseases due to mutations in mtDNA-encoded subunits of complex I. *BMC Pediatrics*. 20(1): 41.
- DeBalsi, K. L., Hoff, K. E., & Copeland, W. C. (2017). Role of the mitochondrial DNA replication machinery in mitochondrial DNA mutagenesis, aging and age-related diseases. *Ageing Research Reviews*. 33: 89–104.
- Destiarani, W., Mulyani, R., Yusuf, M., & Maksun, I. P. (2020). Molecular Dynamics Simulation of T10609C and C10676G Mutations of Mitochondrial *ND4L* Gene Associated With Proton Translocation in Type 2 Diabetes Mellitus and Cataract Patients. *Bioinformatics and Biology Insights*. 14: 1–8.
- Devi, S. M., Nair, A. P., I. Mahalaxmi, & V. Balachandar. (2021). Mitochondrial function and epigenetic outlook in Leber's Hereditary Optic Neuropathy (LHON). *Neurology Perspectives*. 1(4): 220–232.
- Ding, Y., Zhuo, G., Guo, Q., & Li, M. (2021). Leber's Hereditary Optic Neuropathy: The roles of mitochondrial transfer RNA variants. *PeerJ*. 9: e10651.
- Engvall, M., Kawasaki, A., Carelli, V., Wibom, R., Bruhn, H., Lesko, N., Schober, F. A., Wredenberg, A., Wedell, A., & Träisk, F. (2021). Case Report: A Novel Mutation in the Mitochondrial *MT-ND5* Gene Is Associated With Leber Hereditary Optic Neuropathy (LHON). *Frontiers in Neurology*. 12: 652590.

- Fan, H.-C., Lee, H.-F., Yue, C.-T., & Chi, C.-S. (2021). Clinical Characteristics of Mitochondrial Encephalomyopathy, Lactic Acidosis, and Stroke-Like Episodes. *Life*. 11(11): 1111.
- Finsterer, J. (2019). Pharmacotherapeutic management of epilepsy in MERRF syndrome. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*. 20(10): 1289–1297.
- Gorman, G. S., Chinnery, P. F., DiMauro, S., Hirano, M., Koga, Y., McFarland, R., Suomalainen, A., Thorburn, D. R., Zeviani, M., & Turnbull, D. M. (2016). Mitochondrial diseases. *Nature Reviews Disease Primers*. 2(1): 16080.
- Groenhof, G. (2013). Introduction to QM/MM Simulations. Dalam L. Monticelli & E. Salonen (Eds.), *Biomolecular Simulations* (Vol. 924, hlm. 43–66). Humana Press. New Jersey.
- Hahn & Zuryn. (2019). Mitochondrial Genome (mtDNA) Mutations that Generate Reactive Oxygen Species. *Antioxidants*. 8(9): 392.
- Horwitz, J. (2003). Alpha-crystallin. *Experimental Eye Research*. 76(2): 145–153.
- Ide, T., Tsutsui, H., Kinugawa, S., Utsumi, H., Kang, D., Hattori, N., Uchida, K., Arimura, K., Egashira, K., & Takeshita, A. (1999). Mitochondrial Electron Transport Complex I Is a Potential Source of Oxygen Free Radicals in the Failing Myocardium. *Circulation Research*. 85(4): 357–363.
- James, A. M., & Murphy, M. P. (2002). How mitochondrial damage affects cell function. *J BiomedSci*. 9: 475–487.
- Jiang, Z., Cai, X., Kong, J., Zhang, R., & Ding, Y. (2022). Maternally transmitted diabetes mellitus may be associated with mitochondrial ND5 T12338C and tRNAAla T5587C variants. *Ir J Med Sci*. 191(6): 2625–2633.
- Jin, X., Zhang, J., Yi, Q., Meng, F., Yu, J., Ji, Y., Mo, J. Q., Tong, Y., Jiang, P., & Guan, M.-X. (2021). Leber's Hereditary Optic Neuropathy Arising From the Synergy Between ND1 3635G>A Mutation and Mitochondrial YARS2 Mutations. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 62(7): 22.
- Kim, T., Kim, H. H., & Joo, H. (2011). Mitochondrial DNA Mutation and Oxidative Stress. *Interdisciplinary Bio Central*. 3(4): 1–8.
- Kogelnik, A. (1996). MITOMAP: A human mitochondrial genome database. *Nucleic Acids Research*. 24(1): 177–179.
- Kowalska, M., Piekut, T., Prendecki, M., Sodel, A., Kozubski, W., & Dorszewska, J. (2020). Mitochondrial and Nuclear DNA Oxidative Damage in Physiological and Pathological Aging. *DNA and Cell Biology*. 39(8): 1410–1420.
- Li, S., Wan, P., Peng, T., Xiao, K., Su, M., Shang, L., Xu, B., Su, Z., Ye, X., Peng, N., Qin, Q., & Li, L. (2016). Associations between sequence variations in the mitochondrial DNA D-loop region and outcome of hepatocellular carcinoma. *Oncology Letters*. 11(6): 3723–3728.
- Lin, J., Zhao, C.-B., Lu, J.-H., Wang, H.-J., Zhu, W.-H., Xi, J.-Y., Lu, J., Luo, S.-S., Ma, D., Wang, Y., Xiao, B.-G., & Lu, C.-Z. (2014). Novel mutations m.3959G>A and

- m.3995A>G in mitochondrial gene *MT-ND1* associated with MELAS. *Mitochondrial DNA*. 25(1): 56–62.
- Maksum, I. P. (2018). *Patogenetika, Investigasi, & Terapi Penyakit Mitokondria*. BITREAD Publishing. Bandung.
- Maksum, I. P. (2020). *Varian Genom Mitokondria pada Pasien Diabetes Melitus Tipe 2 dan Katarak serta Kajian Pengaruh Mutasi pada Varian Genom Secara In Silico*. Unpad Pres. Sumedang.
- Maksum, I. P., Natradisastra, G., Nuswantara, S., & Ngili, Y. (2013). The Effect of A3243G Mutation of Mitochondrial DNA to the Clinical Features of Type-2 Diabetes Mellitus and Cataract. *European Journal of Scientific Research*. 96(4): 591–599.
- Maksum, I. P., Safitri, S., Yusuf, M., Natradisastra, G., Nuswantara, S., Suprijana, O., & Noer, A. S. (2010). *Structure and function of CYB in type-2 diabetes mellitus and cataract patients which associated with mitochondrial DNA mutation*. Paper Presented in the 1st International Conference on Computation for Science and Technology, Chiang Mai, 4-6 August 2010, pp. 103–110.
- Nicholls, T. J., & Minczuk, M. (2014). In D-loop: 40years of mitochondrial 7S DNA. *Experimental Gerontology*. 56: 175–181.
- Pieczenik, S. R., & Neustadt, J. (2007). Mitochondrial dysfunction and molecular pathways of disease. *Experimental and Molecular Pathology*. 83(1): 84–92.
- Rahman, S., & Copeland, W. C. (2019). POLG-related disorders and their neurological manifestations. *Nature Reviews Neurology*. 15(1): 40–52.
- Röpke, M., Riepl, D., Saura, P., Di Luca, A., Mühlbauer, M. E., Jussupow, A., Gamiz-Hernandez, A. P., & Kaila, V. R. I. (2021). Deactivation blocks proton pathways in the mitochondrial complex I. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 118(29): e2019498118.
- Rovcanin, B., Jancic, J., Samardzic, J., Rovcanin, M., Nikolic, B., Ivancevic, N., Novakovic, I., & Kostic, V. (2020). In silico model of mtDNA mutations effect on secondary and 3D structure of mitochondrial rRNA and tRNA in Leber's hereditary optic neuropathy. *Experimental Eye Research*. 201: 108277.
- Russell, O. M., Gorman, G. S., Lightowlers, R. N., & Turnbull, D. M. (2020). Mitochondrial Diseases: Hope for the Future. *Cell*. 181(1): 168–188.
- Satiyarti, R. B., Sajati, N. D., & Mulyani, R. (2020). Identifikasi Mutasi DNA Daerah HV1 dan HV2 D-Loop Mitokondria dari Pasien Diabetes Mellitus Tipe 2 (DMT2). *Jurnal Kartika Kimia*. 3(1): 1.
- Schapira, A. H. V. (2006). Mitochondrial disease. *Lancet*. 368: 70–82.
- Štufková, H., Kolářová, H., Lokvencová, K., Honzík, T., Zeman, J., Hansíková, H., & Tesařová, M. (2022). A Novel MTTK Gene Variant m.8315A>C as a Cause of MERRF Syndrome. *Genes*. 13(7): 1245.

- Susmiarsih, T. (2010). Peran Genetik DNA Mitokondria (mtDNA) Pada Motilitas Spermatozoa. *Majalah Kesehatan PharmaMedika*. 2(2): 178-184.
- Taylor, R., & Turnbull, D. M. (2005). Mitochondrial DNA Transcription: Regulating the Power Supply. *Cell*. 130(2): 211–213.
- Tetsuka, S., Ogawa, T., Hashimoto, R., & Kato, H. (2021). Clinical features, pathogenesis, and management of stroke-like episodes due to MELAS. *Metabolic Brain Disease*. 36(8): 2181–2193.
- Wahid, M. (2020). Mitochondrial tRNA^{Leu(UUR)} gene A3245G Mutation in Type 2 Diabetes. *Journal of Clinical & Community Medicine*. 2(4): 200–202.
- Wei, Y.-H., & Lee, H.-C. (2003). Mitochondrial DNA mutations and oxidative stress in mitochondrial diseases. Dalam Spiegel, H. E., Nowacki, G. & Hsiao, K.-J. (Eds). *Advances in Clinical Chemistry* (Vol. 37, hlm. 83–128). Elsevier. Amsterdam.
- Yarham, J. W., Elson, J. L., Blakely, E. L., McFarland, R., & Taylor, R. W. (2010). Mitochondrial tRNA mutations and disease. *Wiley Interdisciplinary Reviews: RNA*. 1(2): 304–324.