

Detection of *Candida albicans* in Urine Patients of Diabetes Melitus using Polymerase Chain Reaction (PCR) Method

Helmalia Bilqis Exzora¹, & Muhammad Taufiq Qurrohman^{1*}

¹Program Studi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta, Indonesia;

Article History

Received : June 01th, 2024

Revised : July 03th, 2024

Accepted : July 23th, 2024

*Corresponding Author:

Muhammad Taufiq Qurrohman,
Program Studi Sarjana Terapan
Teknologi Laboratorium Medis,
Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan
Nasional Surakarta, Indonesia;
Email:
m.taufiqqurrohman@stikesnas.ac.id

Abstract: *Candida albicans* is a dimorphic fungus that can grow in culture as a blastospore or as pseudohyphae. Laboratory diagnosis of the *Candida albicans* fungus can be carried out molecularly, which aims to identify DNA in the fungus being examined and carried out by going through the initial molecular stage, namely DNA isolation. The purpose of this study was to determine whether the fungus *Candida albicans* was present in urine isolate samples from diabetes mellitus sufferers at the Wonosari 1 Klaten Community Health Center. The research method used is descriptive. The samples used were urine samples from diabetes mellitus sufferers at the Wonosari 1 Community Health Center. Based on the research results, data analysis and discussion in this study, it can be concluded that the *Candida albicans* fungus can be detected in the ITS2 region at a product length of 107bp using the Polymerase Chain Reaction (PCR) method.

Keywords: *Candida albicans*, DNA isolation, ITS2.

Pendahuluan

Infeksi jamur, termasuk infeksi jamur oportunistik, terus meningkat. Infeksi jamur yang paling umum adalah kandidiasis dimana disebabkan oleh jamur *Candida albicans*. *Candida albicans* (Fatimah, 2017). Infeksi jamur organ tubuh seperti kerongkongan, hati, ginjal, jantung, mata, paru-paru, dan otak (Thristy, 2018). Salah satu faktor resiko infeksi ialah diabetes melitus. Infeksi Diabetes melitus disebabkan mekanisme pertahanan tubuh penderita rendah, tingginya kadar glukosa didalam urine (Indrayati & Afriani, 2018). Hiperglikemia mengakibatkan kadar glukosa darah puasa di atas 110 mg/dl. Kadar glukosa pada serum melebihi 160-180 mg/dl, glukosa tersebut akan keluar bersama urin, serta keadaan ini disebut glukosuria. Glukosuria menyebabkan infeksi jamur yang disebabkan konsentrasi glukosa yang pekat pada urin (Akbar, 2018).

Menurut WHO (*World Health Organization*), Indonesia memiliki prevalensi

diabetes melitus yang menempati urutan keempat terbesar di dunia. Penelitian yang dilakukan di RSUD Ahmad Yani kota Metro, Lampung, didapatkan 31 responden penderita Diabetes Melitus yang terdiri dari wanita dan pria. Sebanyak 31 sampel urin pasien diabetes yang diuji telah ditemukan 6 sampel (19,35%) positif *Candida albicans* dan 25 sampel (80,64%) negatif *Candida albicans* (Rani, 2016).

Polymerase Chain Reaction (PCR) merupakan metode enzimatik untuk mengamplifikasi DNA secara in vitro serta identifikasi keberadaan jamur (Hasibuan, 2015). Pemeriksaan ini lebih singkat sehingga membantu diagnosa lebih cepat (Imam & Sriwidodo, 2019). Pada sampel dengan hasil negatif, *Candida albicans* tidak terdeteksi. Primer tidak mengenali wilayah *Candida albicans*, kemungkinan disebabkan oleh perubahan urutan basa jamur atau mutasi yang disebabkan oleh isolat pada media SDA yang bukan merupakan spesies *Candida albicans* (Clancy & Nguyen, 2018).

Kunci PCR yaitu primer yang digunakan sesuai dan DNA memiliki kualitas yang tinggi (Wildani, 2018). Menurut James (2013) daerah *Internal Transcribed Spacer* (ITS) merupakan wilayah untuk identifikasi yeast sampai tingkat spesies. Daerah ITS merupakan daerah noncoding yang memiliki laju mutasi lebih tinggi (Fujita, 2013). Terdapat beberapa wilayah ITS yaitu ITS1, ITS2, ITS3 dan ITS4. ITS2 merupakan wilayah yang mengapit gen 28S. Pada ITS1 dan ITS2 yaitu merupakan wilayah yang paling sering di temukan jamur *Candida* sp. Wilayah ITS2 merupakan wilayah spesifik untuk jamur *Candida albicans*. Sedangkan pada wilayah ITS3 dan ITS4 merupakan wilayah jamur non *Candida*. Penelitian Giorgio *et al.*, 2013 didapatkan hasil positif terdapat jamur *Candida albicans* sebanyak 47 sampel yang di deteksi pada wilayah ITS2 dengan metode PCR. Berdasarkan latar belakang maka penelitian perlu dilakukan terkait deteksi jamur *Candida albicans* pada wilayah ITS2 menggunakan metode PCR dari pasien Diabetes melitus di Puskesmas Wonosari 1 Klaten.

Bahan dan Metode

Tempat dan waktu penelitian

Penelitian ini telah memperoleh izin etik penelitian dengan nomor KEPK / UMP / 34/IV/2024. Jenis penelitian menggunakan desain penelitian deskriptif. Pengambilan sampel penelitian dilakukan di Puskesmas Wonosari 1 Klaten. Deteksi *Candida albicans* Pada Urin Penderita Diabetes Melitus dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional. Subyek dalam penelitian ini adalah program lansia (Prolanis) diabetes melitus di Puskesmas Wonosari 1 Klaten. Obyek dalam penelitian ini adalah *Candida albicans* dalam urin penderita diabetes melitus, di Puskesmas Wonosari 1 Klaten. Populasi dalam penelitian Skripsi ini adalah sebanyak 15 prolanis diabetes melitus Puskesmas Wonosari 1 Klaten. Sampel yang digunakan dalam penelitian Skripsi ini adalah 15 sampel urin yang diambil dari populasi pasien prolanis diabetes melitus di Puskesmas Wonosari 1 Klaten.

Metode penelitian

Teknik sampling yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan *quota sampling* dengan sampel sebanyak 15 pasien diabetes melitus yang didasarkan pada kriteria mengikuti prolanis diabetes melitus dan memiliki kadar gula darah lebih dari 200 mg/dl.

Alat dan bahan penelitian

Alat penelitian adalah pot urin, centrifuge, tabung, mikrosentrifuge, blue tip, collection tube, spindown, vortex, spincoloumn, parafilm, magnetic stirrer, erlenmeyer, pinset, gel doc, rak tabung, timbangan, spatel, waterbath, screw cap tube, PCR tube, refrigerator, chamber, powerpack, dan thermal cycler. Bahan antara lain : Sampel urin, serbuk agarose, TBE 10x, buffer TAE 1x, aquabidest, isopropanol, etanol 70%, lyticase, EDTA, *Primer Forward: 5'-CTGGGTTTGGTGTTGAGCA-3'*, *Primer Reverse: 5'-CGCAAGCAATGTTTTTGGTT-3'*, Kit Wizard Genomic DNA Purification, nuclease free water, *buffer elution*, wash buffer, Nuclei Lysis Solution, Protein Precipitation Solution.

Hasil dan Pembahasan

Karakteristik responden

Penelitian ini diawali dengan membagikan kuisioner kepada responden pasien diabetes melitus di puskesmas wonosari 1 sebanyak 15 responden. Data pada tabel 1 menampilkan berbagai informasi karakteristik responden diabetes melitus yang berkaitan dengan keberadaan jamur *Candida albicans*. Responden diabetes melitus dengan rentang umur 50-60 tahun sebanyak 34%, rentang umur 60-70 tahun sebanyak 46,2%, rentang umur >70 tahun sebanyak 19,8%. Responden diabetes melitus dengan kadar glukosa normal sebanyak 0% dan kadar glukosa tinggi sebanyak 100%.

Responden diabetes melitus dengan kadar glukosa urin dengan hasil kadar +1 sebanyak 13,2%, kadar +2 sebanyak 27%, kadar +3 sebanyak 20%, kadar +4 sebanyak 20%. Responden diabetes melitus yang mengkonsumsi obat sebanyak 26,4% dan yang tidak mengkonsumsi obat sebanyak 72,6%. Responden diabetes melitus yang memiliki riwayat keluarga sebanyak 79,2% dan yang tidak memiliki riwayat keluarga sebanyak 19,8%.

Tabel 1. Karakteristik Responden

Variabel	Responden	
	F	%
Umur (Tahun)		
50-60	5	34
60-70	7	46,2
>70	3	19,8
Total	15	100
Kadar Gula Darah		
Normal (120 mg/dl)	0	
Tinggi (>120 mg/dl)	15	100
Total	15	100
Glukosa Urin		
+1	2	13,2
+2	4	27
+3	6	39,8
+4	3	20
Total	15	100
Konsumsi Obat DM		
Ya	4	26,4
Tidak	11	72,6
Total	15	100
Riwayat Keluarga		
Ya	12	79,2
Tidak	3	19,8
Total	15	100

(Data Primer, 2024)

Hasil uji kualitatif dan kuantitatif

Hasil uji kualitatif DNA kontrol *Candida albicans* menunjukkan terbentuknya pita DNA. Visualisasi hasil isolasi DNA sesuai pada gambar 1 yaitu pita DNA yang dihasilkan tampak jelas dan tidak terdapat smear.



Gambar 1. Uji kualitatif control *Candida albicans*

Hasil uji kualitatif isolasi DNA sampel urin responden pada gambar 2 menunjukkan terdapat pita DNA yang tampak jelas pada semua sampel akan tetapi pada sampel nomor 13 didapatkan hasil pita DNA yang sangat tipis. Kemurnian DNA terendah ditunjukkan dengan nilai kemurnian 0,44 pada sampel nomor 12, sedangkan kemurnian DNA tertinggi ditunjukkan pada sampel nomor 10 dengan nilai kemurnian 1,0 sedangkan rasio nilai kemurnian DNA yaitu 1,8-2,0.

Tabel 2. Hasil Uji Kuantitatif DNA dengan instrument *Spektrofotometer UV VIS*

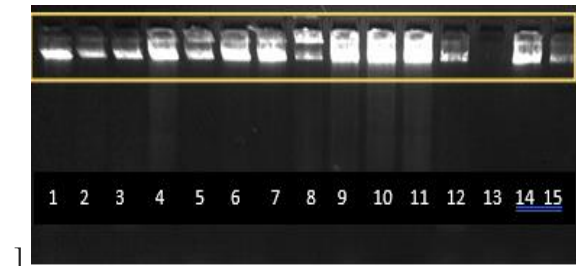
No	Kode	$\lambda 260$	$\lambda 280$	Kemurnian DNA	Konsentrasi (ng/ul)
1.	K1	0,0101	0,0177	0,57	101
2.	K2	0,0128	0,0259	0,49	128
3.	BS	0,0118	0,0168	0,70	118
4.	DL	0,0123	0,0159	0,77	123
5.	D	0,0128	0,0178	0,71	128
6.	MES	0,0153	0,0195	0,78	153
7.	M	0,0118	0,0193	0,61	118
8.	N	0,0143	0,0193	0,74	143
9.	SR	0,0122	0,0170	0,71	122
10.	SH	0,0270	0,0259	1,0	270
11.	SO	0,0153	0,0283	0,54	153
12.	SK	0,0120	0,0272	0,44	120
13.	SN	0,0127	0,0245	0,51	127
14.	W	0,0128	0,0259	0,49	128
15.	DS	0,0177	0,0338	0,52	177
16.	J	0,0438	0,0538	0,81	438
17.	R	0,0233	0,0391	0,59	233

(Data Primer, 2024)

Konsentrasi DNA terendah pada sampel adalah 101 ng/ul pada sampel nomor 1 dan konsentrasi tertinggi ditunjukkan pada sampel

nomor 16 dengan konsentrasi 438 ng/ul. Rasio nilai konsentrasi terbaik yaitu konsentrasi diatas 100 ng/ul sehingga dapat dikatakan bahwa

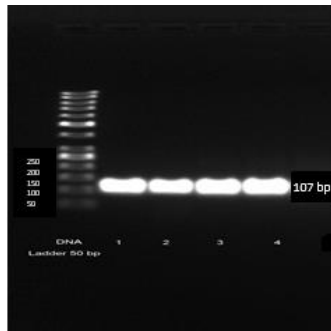
konsentrasi DNA pada sampel didapatkan hasil yang baik.



Gambar 2. Uji kualitatif sampel urin pasien diabetes melitus

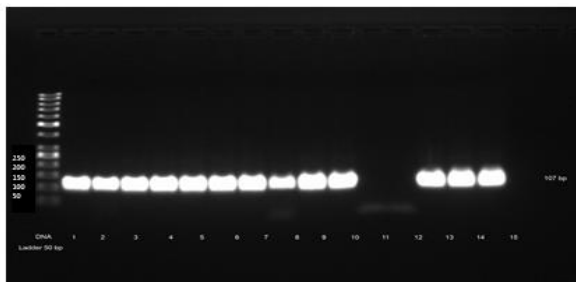
Hasil amplifikasi *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

Visualisasi elektroforesis hasil PCR kontrol tersebut menggunakan satu sampel isolat *Candida albicans* yang dilakukan dengan cara duplikasi sehingga didapatkan 4 hasil amplifikasi di wilayah ITS2 *Candida albicans*.



Gambar 3. Hasil PCR control *Candida albicans*

Hasil visualisasi PCR pada sampel urin responden ditunjukkan dengan adanya pita DNA yang jelas, tebal serta tidak terdapat smear dan dimer pada Panjang produk 107bp. Visualisasi elektroforesis PCR responden didapatkan hasil pada sampel nomor 11 dan 12 tidak tervisualisasi pita DNA pada wilayah ITS2 *Candida albicans*.



Gambar 4. Hasil PCR sampel urin pasien diabetes melitus

Pembahasan

Karakteristik responden

Hasil penelitian yang telah dilakukan, tingginya kadar glukosa disertai hasil kadar gula urin positif dapat memicu terjadinya diabetes melitus. Ketika konsentrasi glukosa dalam darah meningkat dan tidak dapat diserap kembali oleh ginjal, ekskresi glukosa ke dalam urin, atau glikemia, terjadi ketika glukosa terdapat dalam urin. (Welliangan, 2019). Hasil pemeriksaan kadar glukosa urin positif harus lebih memperhatikan pengendalian kadar gula darah, kadar gula darah yang tinggi akan dikeluarkan bersama melalui urin (Suwitra, 2019).

Diabetes melitus juga dapat dipicu oleh faktor usia. Sesuai dengan informasi tabel karakteristik responden bahwa kelompok umur yang paling banyak terjadi adalah pada rentang 60-70 tahun, yang termasuk dalam kategori lansia. Menurut Az-Zahro (2021), Infeksi kandidiasis adalah infeksi jamur yang disebabkan oleh pertumbuhan jamur yang berlebihan. Akibat ketidakseimbangan hormonal, jumlah jamur *Candida albicans* berlipat ganda (muncul gejala kandidiasis). Kondisi yang dapat menyebabkan kandidiasis antara lain gangguan kekebalan tubuh dan diabetes. Faktor usia yang termasuk kategori lansia memiliki sistem imun yang sudah melemah. Usia di atas 45 tahun merupakan faktor risiko terkena diabetes melitus karena dapat menyebabkan penurunan fungsi anatomi, biokimia, dan fisiologis (Hariawan *et al.*, 2019).

Uji kualitatif dan kuantitatif

Penelitian dilanjutkan dengan melakukan uji kualitatif DNA pada sampel. Penelitian ini memiliki beberapa kelebihan yakni penggunaan enzim *Lyticase* yang dapat membantu proses pelisisan sel. Menurut Goldschmidt *et al.*, (2014), menyebutkan bahwa enzim *Lyticase* dapat membantu proses pelisisan sel. Hasil isolasi dapat diketahui melalui elektroforesis gel agarose. Gel agarose merupakan metode yang digunakan untuk mengidentifikasi fragmen-fragmen *Deoxyribo Nucleic Acid* (DNA) dan *Ribose Nucleic Acid*. Kelebihan gel ini adalah lebih sederhana serta kecepatan pemisahan lebih cepat. Sebelum melakukan elektroforesis, terlebih dahulu harus ditambahkan loading buffer (pewarna) pada suspensi DNA. Hal ini

meningkatkan kepadatan sehingga DNA selalu berada di dasar sumur. DNA selalu berada di dasar sumur. Menurut Suharsono & Widyastuti (2016), *loading buffer* (dye) juga berfungsi sebagai pewarna untuk memudahkan meletakkan sampel DNA ke dalam sumuran.

Uji kualitatif pada pada Gambar 1 dan Gambar 2, menunjukkan isolasi DNA telah berhasil tervisualisasi. Fragmen DNA dapat diketahui dari adanya pita DNA yang terang dan tebal yang didapatkan dari hasil isolasi DNA jamur *Candida albicans* dan sampel urin pasien diabetes melitus. Pita DNA yang dihasilkan cerah, tebal, dan bebas luntur. Hal ini menunjukkan bahwa DNA tersebut memiliki kualitas yang cukup tinggi. Souza dkk (2022) menyatakan bahwa hasil DNA yang baik dapat dilihat dengan ada tidaknya pita DNA saat memvisualisasikan di bawah sinar UV. DNA yang tebal menunjukkan tingginya konsentrasi isolasi DNA yang dihasilkan, sedangkan pita DNA yang tipis menunjukkan rendahnya konsentrasi DNA yang dihasilkan (Hidayati *et al.*, 2016).

Penelitian ini juga mengukur kuantitas DNA, pengukuran menggunakan alat *spektrofotometer UV-Vis*. Kemurnian dapat ditentukan dengan menghitung rasio nilai 260 nm dan 280 nm. Nilai 260 nm merupakan jumlah cahaya maksimum yang dapat diserap DNA (Fatchiyah, 2019). Hasil uji kuantitas DNA diperoleh konsentrasi DNA yang cukup baik dengan nilai rata-rata lebih dari 100 ng/ul. Nilai DNA yang baik memiliki konsentrasi diatas 100 ng/ul. Tingkat konsentrasi tertinggi DNA tergantung pada banyaknya DNA, kondisi sampel serta beberapa faktor pada saat ekstraksi DNA (Komalasari, 2019). Tahap lisis dan pengendapan sel memerlukan penghilangan supernatan, yang mengendapkan DNA dalam beberapa sampel, menjadikan faktor laju ekstraksi sebagai faktor yang berpengaruh (Komalasari, 2019). Faktor lain yang bisa mempengaruhi kuantitas DNA seperti jenis sampel yang digunakan, metode ekstraksi, dan kondisi lingkungan yang kurang steril.

Hasil uji kemurnian DNA didapatkan rata-rata nilai yaitu kurang dari sama dengan 1,0. Rata-rata nilai kemurnian DNA yaitu diantara 1,8 – 2,0. Sehingga dapat disimpulkan isolat DNA pada sampel memiliki konsentrasi yang baik yaitu lebih dari 100 ng/ul tetapi memiliki nilai

kemurnian yang rendah yaitu kurang dari 1,8. Rendahnya nilai kemurnian DNA atau jika didapatkan nilai kemurnian DNA dibawah 1,8 dapat disebabkan karena DNA terkontaminasi protein dan polisakarida, selain itu rendahnya kemurnian DNA dapat dipengaruhi penggunaan kuvet yang tidak jernih sehingga absorbansi sinar UV pada *spektrofotometer UV-Vis* terganggu (Dewanata dan Mushlih, 2021). Nilai kemurnian DNA yang rendah juga bisa disebabkan karena terdapat sisa *loading dye* yang terdapat pada pori gel agarose dan juga bisa disebabkan dari segi teknis pada saat pengukuran, homogenisasi dan proses *pipetting* yang kurang tepat menyebabkan DNA terputus menjadi fragmen-fragmen (Bustamam, 2014). Menurut Aristya dkk, (2013), DNA yang memiliki kemurnian yang rendah tidak menjadi pengganggu pada saat amplifikasi DNA dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) jika primer merupakan primer spesifik.

Amplifikasi *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

Penelitian dilanjutkan dengan melakukan proses *Polymerase Chain Reaction* (PCR), tahap yang penting dalam melakukan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) yaitu denaturasi, annealing, dan extention. Annealing atau tahap penempelan primer pada template DNA. Jika suhu annealing terlalu tinggi, amplifikasi DNA mungkin gagal, dan jika suhu anil terlalu rendah, primer dapat menempel pada situs yang tidak spesifik (Yuenleni, 2019). Hasil elektroforesis produk PCR dapat dilihat pada Gambar 3 dan Gambar 4 terlihat bahwa primer ITS2 *Candida albicans* dapat tervisualisasi dengan produk 107bp. Terdapat hasil pita yang tidak tervisualisasi pada sampel urin responden dengan nomor sampel 11 dan 12 hal tersebut disebabkan karena adanya kontaminasi dengan senyawa-senyawa seperti protein, RNA, atau senyawa organik lainnya yang dapat memengaruhi hasil serta tidak adanya wilayah ITS2 *Candida albicans* pada nomor sampel tersebut.

Berdasarkan hasil penelitian ini, adanya pita yang tervisualisasi menandakan bahwa sampel urin responden terdapat adanya jamur *Candida albicans* di wilayah ITS2 pada Panjang produk 107bp. Menurut Irmawati (2013) mengatakan Jika pita DNA tebal maka konsentrasinya tinggi dan seluruh DNA yang diekstraksi utuh. Sebaliknya, jika pita DNA

tampak tersebar, hal ini menunjukkan bahwa ikatan antar molekul DNA putus selama pembelahan, dan pita DNA tidak ada. Proses ekstraksi memotong genom DNA menjadi potongan-potongan kecil. Putusnya ikatan antar molekul dapat disebabkan oleh agitasi fisik berlebihan yang mungkin terjadi selama pemipaan, pembalikan terus-menerus dalam Eppendorf atau mesin sentrifugasi, atau oleh suhu atau aktivitas bahan kimia tertentu yang berlebihan.

Kelebihan dari penelitian ini adalah primer yang digunakan merupakan primer yang spesifik sehingga dapat mengamplifikasi pada daerah yang semestinya dan dapat menghasilkan pita DNA yang tebal dan tidak terdapat smear. Kelemahan dari penelitian ini adalah sampel yang digunakan sedikit serta tidak dapat mengetahui ekspresi gen pada wilayah ITS2 *Candida albicans*.

Kesimpulan

Deteksi jamur *Candida albicans* pada wilayah ITS2 menggunakan metode PCR dari pasien Diabetes melitus di Puskesmas Wonosari 1 Klaten dapat disimpulkan bahwa *Candida albicans* pada urin pasien diabetes melitus dapat terdeteksi di wilayah ITS2 pada panjang produk 107bp menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) konvensional.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada ketua Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta atas fasilitas Laboratorium Biologi Molekuler yang telah membantu peneliti untuk menyelesaikan penelitian. Selain itu, terima kasih juga kepada ketua Puskesmas Wonosari 1 Klaten atas kerjasama dan kemudahan yang diberikan selama proses pengambilan data sehingga penelitian ini dapat dilaksanakan.

Referensi

Akbar, B. M. (2018). *Gambaran Candida albicans Pada Urin Penderita Diabetes Mellitus Di Rumah Sakit Bhayangkara. Repository Poltekkes Kemenkes*

- Palembang*, accessed April 10,2023.
- Aristya, G.R. Agriansyah, A. Daryono, B.S. (2013). *Deteksi dan Skrining Pewarisan Sifat Ketahanan Penyakit Powdery Mildew pada Generasi Backcross Tanaman Melon (Cucumis melo L.) Var Tacapa*. Fakultas Biologi. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Az-zahro, F., Kristinawati, E., & Fikri, Z. (2021). *Hubungan Antara Kandidiasis Pada urine Wanita Penderita Diabetes Mellitus dengan Nilai Positivitas Glukosuria di Wilayah Kerja Puskesmas Narmada. Jurnal Analis Medika Biosains (JAMBS)*, 8(2), 92–98. <https://doi.org/10.32807/jambs.v8i2.239>
- Dewanata, P. A., & Mushlih, M. (2021). *Differences in DNA Purity Test Using UV-Vis Spectrophotometer and Nanodrop Spectrophotometer in Type 2 Diabetes Mellitus Patients* .vol 15. <https://doi.org/10.21070/ijins.v15i.553>
- Fatchiyah. (2011). *Dasar-Dasar Teknik Analisa Biologi Molekuler*. Jakarta : Erlangga
- Helmawati. (2021). *Cegah Diabets Sebelum Terlambat*. Editor Herman Adamson. Yogyakarta : Healthy. Diakses pada tanggal 20 Juli 2021.
- Imam, M. P., & Sriwidodo. (2019). *Buku Teknik Biologi Molekular* (Issue September) Departemen Kimia FMIPA Universitas Padjadjaran,109.
- Indrayati, S., & Afriani STIKes Perintis Padang, M. (2018). *Jurnal Kesehatan Perintis (Perintis's. Health Journal, 5(2)*. <https://doi.org/10.33653/jkp.v5i2.146>
- Komalasari, K. 2019. *Pengaruh Perbandingan Volume Darah Dan Lisis Buffer Serta Kecepatan Sentrifugasi Terhadap Kualitas Produk DNA Pada Sapi Friesian Holstein (Fh)*. Institut Pertanian Bogor. Skripsi. Departemen Ilmu Produksi Dan Teknologi Peternakan Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor.
- Muhajir, N. F., Nadifah, F., Arisandi, D., & Susliyanti, M. (2022). *Identifikasi Candida Sp Dalam Urine Penderita Diabetes Mellitus Tipe 2 Di Puskesmas Ngemplak 2 Kabupaten Sleman Yogyakarta*. *Jurnal Mitra Kesehatan*, 3(1), 41–46.

- <https://doi.org/10.47522/jmk.v3i1.50>
Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) (2018). Badan Penelitiandan Pengembangan Kesehatan Kementerian RI tahun 2018. http://www.depkes.go.id/resources/download/infoterkini/materi_rakorp2018/Hasil%20Riskesdas%202018.pdf – Diakses Agustus 2018.
- Souza, A. L. (2022). *Prevalence , Molecular Identification , and Genotyping of Candida Species Recovered from Oral Cavity among Patients with Diabetes Mellitus from.* 1–8. <https://doi.org/10.4103/abr.abr>
- Suharsono & Widyastuti. 2016. Penuntun Praktikum Pelatihan Teknik Pengklonan Gen. Pusat Penelitian Sumber Daya Hayati dan Bioteknologi. IPB
- Suwitra, K. (2019). Penyakit Ginjal Kronik. Dalam: Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam. Jilid III. Balai Penerbit FKUI. Jakarta. Hlm. 1035-1040
- Welliangan M, Wowor M, Mongan A. (2019). Gambaran kadar glukosa urin pada primagravida dengan orang tua penyandang diabetes melitus di Kota Manado. *eBiomedik*, 7(1):19-23. <https://doi.org/10.35790/ebm.7.1.2019.22621>
- Yuenleni. (2019). Langkah-langkah Optimasi PCR. *Indonesian Journal of Laboratory*. 1(3): 51-56. <https://doi.org/10.22146/ijl.v1i3.48723>