

**KUANTIFIKASI DNA PADA MAHASISWA PEROKOK DAN BUKAN
PEROKOK DI UNIVERSITAS NEGERI MEDAN KECAMATAN MEDAN
TEMBUNG KOTA MEDAN PROVINSI SUMATERA UTARA**

**THE DNA QUANTIFICATION IN SMOKER STUDENTS AND NON- SMOKING
AT STATE UNIVERSITY OF MEDAN, MEDAN TEMBUNG DISTRICT,
MEDAN CITY, NORTH SUMATRA PROVINCE**

Kezia Artanauli Purba¹, I Ketut Junitha¹, Ni Nyoman Wirasiti¹

¹ Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana
Bukit Jimbaran

Email korespondensi: keziapurba54@gmail.com

ABSTRAK

Identifikasi individu merupakan suatu hal yang sangat penting dalam forensik. DNA dapat diperoleh dari seluruh bagian tubuh dengan profil yang sama pada setiap orang. Epitel mukosa mulut merupakan salah satu sumber DNA yang sering digunakan untuk identifikasi individu karena dalam pengambilannya menggunakan metode swab yang tidak menyakiti sampel penelitian. Merokok merupakan salah satu perilaku yang banyak dilakukan oleh anak-anak muda/remaja. Asap rokok berpengaruh pada sel-sel mukosa mulut karena merupakan radikal bebas. Radikal bebas adalah senyawa oksigen reaktif yang merupakan senyawa dengan elektron yang tidak berpasangan. Deoxyribonucleic acid (DNA) adalah polimer asam nukleat yang tersusun secara sistematis dan merupakan pembawa informasi genetik yang diturunkan kepada keturunannya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kuantitas dan kualitas DNA pada mahasiswa perokok dan mahasiswa bukan perokok di Universitas Negeri Medan Kecamatan Medan Tembung Kota Medan Provinsi Sumatera Utara. Sampel diambil dengan metode swab yaitu epitel mukosa dari 60 mahasiswa yang terdiri dari 30 mahasiswa perokok dan 30 mahasiswa bukan perokok yang berumur 18-22 tahun. Bagian pipi dalam diswab mulai dari bagian belakang hingga kedepan dengan satu arah. Pada penelitian ini ekstraksi DNA dilakukan menggunakan larutan chelex yang bertujuan untuk memisahkan DNA dari protein, uji kuantitas DNA dengan spektrofotometer dan uji kualitas DNA dengan gel agarose. Hasil penelitian menunjukkan rata-rata kuantitas DNA pada sampel mukosa mulut sebesar 1,96 ng/ μ L pada mahasiswa perokok dan sebesar 6,92 ng/ μ L pada mahasiswa bukan perokok. Hasil uji kualitas menggunakan elektroforesis pada gel agarose menunjukkan pada mahasiswa perokok ada pendaran pita tipis dan pada beberapa sampel tidak ada pendaran pita sama sekali. Sedangkan pada mahasiswa bukan perokok ada beberapa sampel yang terlihat ada pendaran pita tipis dan smear.

Kata kunci: Asap rokok, Chelex, Ekstraksi DNA, Metode Swab, Kualitas DNA, Kuantitas DNA

ABSTRACT

Individual identification is very important in forensics. DNA can be obtained from all parts of the body with the same profile in everyone. Oral mucosal epithelium is one of the sources of DNA that is often used to examine individuals because it is taken using a harmless swab method. Smoke is one of the behaviors that are mostly done by young people or teenagers. Cigarette smoke affects the cells of the oral mucosa because it is a free radical. Free radicals are reactive oxygen compounds which are compounds with unpaired electrons.

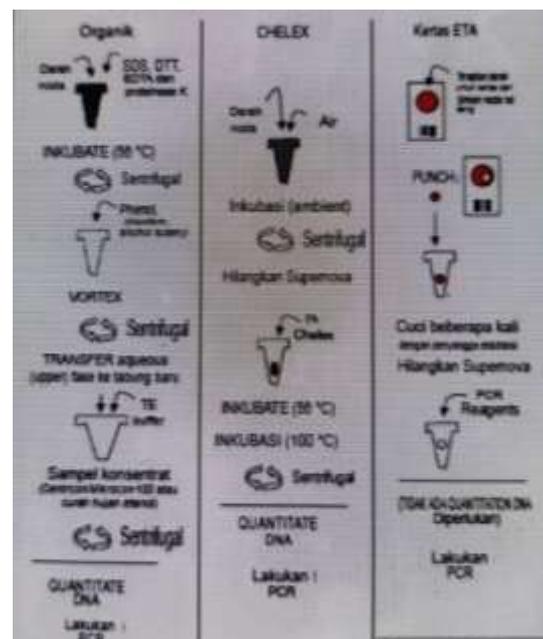
Deoxyribonucleic acid (DNA) is a nucleic acid polymer that is systematically arranged and is a carrier of genetic information that is passed on to offspring. This study aims to determine the quality and quantity of DNA in non-smoking and smoking students at the State University of Medan, Medan Tembung District, Medan City, North Sumatra Province. Samples were taken by swab method, namely mucosal epithelium from 60 college student consisting of 30 smoker college student and 30 non-smoking college student aged 18-22. The cheek in the probandus is swabbed from the back to the front in one direction. In this study, DNA extraction was carried out using a chelex solution which aims to separate DNA from protein, test the quantity of DNA with a spectrophotometer and test the quality of DNA with agarose gel. The results showed that the average DNA quantity in the oral mucosal samples was 1.96 ng/ μ L in the smokers proband and 6.92 ng/ μ L in the non-smoker proband and. The results of the quality test using electrophoresis on agarose gel showed that smoking students had thin bands of fluorescence and in some samples no bands of fluorescence at all. Meanwhile, in the probandus of non-smoker students, there were several samples that showed thin bands of luminescence and stains.

Keywords: *Cigarette smoke, Chelex, DNA Extraction, Swab Method, DNA Quality, DNA Quantity*

PENDAHULUAN

Deoxyribonucleic acid (DNA) adalah polimer asam nukleat yang tersusun secara sistematis dan merupakan pembawa informasi genetik yang diturunkan kepada keturunannya. Informasi genetik disusun dalam bentuk kodon yang berupa tiga pasang basa nukelotida. DNA digunakan dalam identifikasi dikarenakan sifatnya yang lebih informatif dan resisten. Genotipe DNA yang sama dapat diperoleh dari jaringan tubuh yang berbeda yaitu pada darah, saliva, mukosa mulut, sperma, rambut, kulit, dan tulang. Kerusakan DNA merupakan salah satu kelemahan DNA sebagai alat bantu identifikasi yang dapat disebabkan adanya paparan dari lingkungan seperti pH, temperatur dan lain sebagainya. Oleh karena itu perlu penanganan yang tepat dan cepat dalam mengolah sampel salah satunya terkait pada proses ekstraksi. Selain itu tidak jarang ditemui sumber DNA yang jumlah dan kualitasnya terbatas sehingga perlu metode ekstraksi DNA yang efektif dan efisien seperti metode organik, chelex, dan

FTA (Phillips *et al.*, 2012). Skema proses pengerjaan ketiga ekstraksi tersebut dapat dilihat pada Gambar 1. berikut



Gambar 1. Metode dan Skema Proses Ekstraksi DNA (Sumber: Butler, 2010)

Salah satu penyebab kerusakan kualitas DNA yang terjadi pada mukosa mulut dapat diakibatkan oleh rokok

(Yuwono, 2005). Rokok merupakan salah satu produk yang kontroversial karena pro dan kontra yang muncul di masyarakat. Banyaknya dampak buruk seperti efek kecanduan, masalah-masalah kesehatan yang ditimbulkan hingga angka kematian yang meningkat akibat konsumsi rokok yang berlebihan mendapat tantangan dari masyarakat di dunia. Perilaku merokok biasanya dimulai pada usia muda yaitu dalam tahapan perkembangan memasuki masa remaja. Menurut Santrock (2005).

Asap rokok mengandung zat-zat radikal bebas, diantaranya peroksinitrit, hidrogen peroksida, dan superoksida. Radikal bebas dalam asap rokok dapat mempercepat kerusakan seluler akibat stress oksidatif. Molekul target yang dirusak oleh radikal bebas adalah DNA, lemak, dan protein (Fitria dkk., 2013). Paparan oleh asap rokok memiliki relasi yang kuat dengan kerusakan DNA yang dipicu oleh cekaman oksidatif (oxidative stress) dan karsinogenesis (Patel, et al., 2008).

Kerusakan DNA dapat diketahui dengan cara menguji kuantitas dan kualitasnya menggunakan sumber DNA yang diambil dari mukosa mulut. Pada penelitian ini metode dalam pengambilan sampel yaitu metode non invasive yang merupakan metode yang baik dilakukan pada bidang Forensik yaitu sampling DNA melalui swab mukosa mulut.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Februari 2020 sampai Maret. Pengambilan sampel dilakukan di Universitas Negeri Medan Kecamatan Medan Tembung Kota Medan Provinsi Sumatera Utara. Pelaksanaan penelitian meliputi ekstraksi

DNA, Kuantifikasi dengan Spektrofotometer dan uji kualitas DNA dengan gel agarose yang dilaksanakan di Laboratorium Biologi Universitas Negeri Medan.

Teknik Pengambilan Sampel

Sampel diambil dari 60 orang probandus laki-laki (mewakili populasi mahasiswa perokok dan bukan perokok di Universitas Negeri Medan Kecamatan Medan Tembung Kota Medan Provinsi Sumatera Utara) yaitu 30 probandus mahasiswa perokok dan 30 probandus bukan perokok dan berumur 18-22 tahun. Sampel diambil menggunakan cotton swab yaitu *buccal swab* dengan cara mengusap bagian pipi dalam dari probandus yang dimulai dari bagian belakang sampai kearah depan dengan swab satu arah.

Ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA dilakukan dengan metode chelex (Butler, 2012). Sampel mukosa mulut yang telah diambil menggunakan Cotton swab diambil dari tempat penyimpanan sampel yang bersuhu -22°C . Bagian Cotton dipotong menggunakan cutter steril, dimasukkan ke dalam tube 1,5 mL, Kemudian chelex dimasukkan ke dalam sampel yang berada dalam tube, selanjutnya divortex selama 15 detik, dan disentrifuse dengan kecepatan 20.000 rotasi per menit (rpm) selama 5 menit dan diinkubasi pada suhu 95°C selama 15 menit. Perlakuan ini diulangi sebanyak tiga kali. Lalu sampel divortex kembali selama 15 detik dan disentrifuse selama 15 menit. Perlakuan bertujuan untuk memisahkan substansi berdasarkan berat jenis molekulnya yaitu untuk menarik resin Chelex dan puing seluler ke bagian bawah tabung dan sampel siap digunakan untuk proses selanjutnya.

Kuantifikasi DNA (Uji Kuantitas)

Cara kerja pengujian kuantitatif DNA diawali dengan menyalakan alat Spektrofotometri. Spektrofotometer diatur panjang gelombang 260 nm dan 280 nm. Kemudian dilakukan uji blanko menggunakan *Aquabidest*. Lalu DNA hasil ekstraksi diambil sebanyak 4 µL dan dimasukkan kedalam tube steril yang berbeda kemudian ditambahkan *Aquabidest* sebanyak 6 µL dan dihomogenkan menggunakan vortex selama 5 detik lalu sebanyak 4 µL sampel epitel mukosa mulut yang telah dihomogenkan dimasukkan kedalam kuvet steril dan kemudian dimasukkan kedalam tempat sampel pada spektrofotometer. Hasil pengukuran muncul dalam konsentrasi ng/µL dan kemurnian DNA dapat dilihat langsung dalam A280 dan A260. Uji kuantitas DNA dilakukan untuk mengetahui konsentrasi dan kemurnian DNA dengan perbandingan A260/280. Hasil yang baik sekitar 1.8 hingga 2.0 konsentrasi DNA dapat dihitung menggunakan rumus hasil uji kuantitatif DNA = OD260 x 50 x faktor pengenceran.

Uji Kualitas DNA (Elektroforesis dengan Gel Agarose)

Kualitas DNA hasil ekstraksi kemudian diuji pada gel agarose 1% dengan metode elektroforesis. Elektroforesis menggunakan agarose 1 % dilakukan

dengan cara 1g agarose dilarutkan dalam larutan 1x TBE (Tris-borat EDTA) sebanyak 100 mL lalu dipanaskan pada hot plate hingga mendidih sambil diaduk hingga larut, kemudian ditambahkan 5 µL larutan gel red dan diaduk hingga homogen. Larutan dituang ke dalam cetakan gel yang telah diberi sisiran pada tepi gel dan gel dibiarkan mengeras. Sisir dicabut setelah gel mengeras sehingga terbentuk sumur-sumur dan ditempatkan ke dalam gel tray elektroforesis yang sudah berisi larutan bufer 1x TBE. Marker Ladder merk Genaid dimasukkan kedalam sumuran pertama yang terdapat pada gel agarose. DNA hasil ekstraksi 8 µL, kemudian dicampur dengan Loading Dye sebanyak 2µL, dimasukkan ke dalam sumur-sumur gel menggunakan mikropipet. Kemudian dilakukan elektroforesis dengan tegangan 100 volt selama 30 menit. Molekul DNA pada gel tray akan bergerak dari kutub negatif menuju kutub positif pada pH netral. Hasil elektroforesis berupa gel agarose dideteksi di bawah UV transilluminator dan didokumentasikan menggunakan kamera *Handphone*.

Metode Pengolahan Data

Hasil analisis konsentrasi DNA menggunakan program komputer yaitu *SPSS For Windows* versi 25 dengan uji statistik menggunakan *Sampel t-Test*.

HASIL **dan Bukan Perokok**
Kuantitas DNA pada Mahasiswa Perokok

Tabel 1. Hasil Kuantitas dan Kemurnian DNA Probandus Mahasiswa Bukan Perokok dan Perokok pada Spektrofotometer.

Probandus	Kuantitas DNA (ng/ μ L)		Kemurnian DNA ($\text{\AA}260/\text{\AA}280$)	
	Perokok (P)	Bukan Perokok (P)	Perokok(P)	Bukan Perokok (P)
1	1,80	11,50	1,17	1,64
2	3,79	3,33	1,27	1,06
3	2,10	1,96	13,3	0,63
4	3,26	3,37	0,68	0,90
5	3,21	5,07	0,92	1,26
6	2,63	1,80	1,64	1,11
7	3,16	3,79	1,06	1,17
8	3,79	2,10	0,63	1,27
9	0,09	3,26	0,90	1,33
10	1,11	3,21	1,26	0,68
11	1,98	2,63	1,11	0,92
12	5,66	3,16	1,17	1,64
13	1,93	3,79	1,27	1,06
14	1,88	3,37	13,3	0,63
15	2,17	53,80	0,68	0,90
16	1,32	4,29	0,92	1,26
17	2,10	3,04	1,64	1,11
18	1,96	3,29	1,06	1,17
19	1,69	2,07	0,63	1,27
20	1,80	2,15	0,90	1,33
21	1,12	9,72	1,26	0,68
22	0,61	8,24	-1,11	0,92
23	1,14	8,36	1,17	1,64
24	0,09	10,27	-1,27	1,06
25	1,11	8,29	1,33	0,63
26	3,37	8,36	1,34	1,15
27	1,69	10,28	1,17	1,34
28	1,12	9,02	1,26	1,1
29	-0,05	6,09	-1,22	1,27
30	0,93	8,24	1,14	0,90
Rata-rata	1,96	6,92	2,0	1,1

Tabel 1. menunjukkan hasil kuantitas dan kemurnian DNA dari probandus mahasiswa perokok dan probandus mahasiswa bukan perokok yang diuji menggunakan Spektrofotometer yang diperoleh dalam satuan ng/ μ L. Berdasarkan hasil uji kuantifikasi DNA hasil ekstraksi dengan menggunakan Spektrofotometer. Hasil kuantifikasi DNA pada probandus mahasiswa perokok menunjukkan hasil kuantitas dan kemurnian DNA yang diuji dari hasil ekstraksi dengan menggunakan Spektrofotometer dan diperoleh rata-rata konsentrasi DNA sebesar 1,96 ng/ μ L. Konsentrasi terendah terdapat pada probandus 29P yaitu sebesar -0,05 ng/ μ L dan konsentrasi tertinggi terdapat pada probandus 12P yaitu sebesar 5,66 ng/ μ L. Pada probandus mahasiswa perokok diperoleh kemurnian DNA dengan rasio A260:A280 yang berkisar antara -1,27-13,3. Terdapat dua sampel (3P dan 14P) yang memiliki nilai rasio A260:A280 melebihi 2,0 yaitu 13,3 dan merupakan kemurnian DNA yang tertinggi diperoleh pada penelitian ini. Terdapat kuantitas DNA dengan angka negatif (29P) dan terdapat juga rasio A260:A280 yang memiliki nilai negative yaitu pada sampel (22P, 24P, 29P) yaitu jumlah konsentrasi dan jumlah kemurnian DNA yang paling rendah yang diperoleh pada penelitian ini. Kuantitas DNA dan rasio A260:A280 yang memiliki nilai negatif yang menandakan sangat sedikitnya jumlah DNA yang dihasilkan oleh sampel mukosa mulut sehingga tidak dapat terdeteksi oleh Spektrofotometer. Hasil kuantifikasi DNA pada probandus mahasiswa bukan diperoleh rata-rata konsentrasi DNA sebesar 6,92 ng/ μ L. Konsentrasi terendah terdapat pada

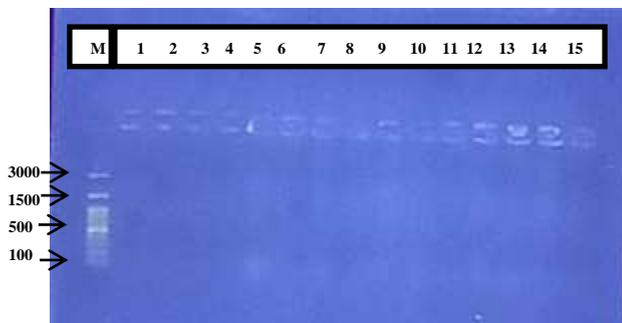
probandus 6BP yaitu sebesar 1,80 ng/ μ L dan konsentrasi tertinggi terdapat pada probandus 15 BP yaitu sebesar 53,80 ng/ μ L. Kemurnian DNA dengan rasio A260:A280 yang berkisar antara 0,63 sampai dengan 1,64. Rata-rata kemurnian DNA pada probandus mahasiswa bukan perokok adalah sebesar 1,1.

Tabel 2. Kuantitas DNA pada mahasiswa bukan perokok dan perokok dengan Spektrofotometer.

Kuantifikasi	Perokok	Bukan Perokok	Signifikan P
Jumlah Probandus	30 Orang	30 Orang	
Konsentrasi DNA (ng/ μ L)	1,96 \pm 1,25 ^b	6,92 \pm 9,36 ^a	0,001*

Tabel 2. menunjukkan bahwa konsentrasi DNA probandus perokok dan bukan perokok berbeda nyata ($P < 0,01$). Perbedaan data jumlah rata-rata konsentrasi DNA diperoleh dari 60 probandus yaitu 30 probandus mahasiswa perokok dan 30 probandus mahasiswa bukan perokok. Perbedaan yang nyata dapat dilihat jelas dari jumlah konsentrasi DNA yang diperoleh dengan uji kuantitas oleh spektrofotometer yaitu sebesar 1,96 ng/ μ L pada probandus mahasiswa perokok dan sebesar 6,92ng/ μ L pada probandus mahasiswa bukan perokok.

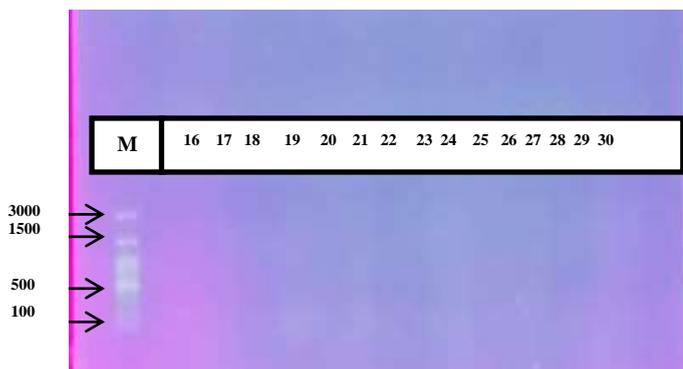
Kualitas DNA pada Mahasiswa Perokok dan Bukan Perokok



Gambar 2. Hasil Uji Kualitas DNA pada Gel Agarose

Keterangan Gambar 2 : M: *Marker ladder* Merk Genaid, Lajur 1 sampai dengan 15: kode sumur gel agarose yang masing-masing dimasukkan sampel epitel mukosa mulut hasil ekstraksi dari probandus.

Gambar 2 menunjukkan bahwa sampel 5 sampai dengan 14 memiliki pendaran pita DNA namun pada gambar tidak terlalu jelas, sedangkan sampel lainnya tidak memiliki pendaran pita DNA sama sekali. Pita DNA yang dihasilkan sampel-sampel ini terletak pada 3000bp – 100 bp.

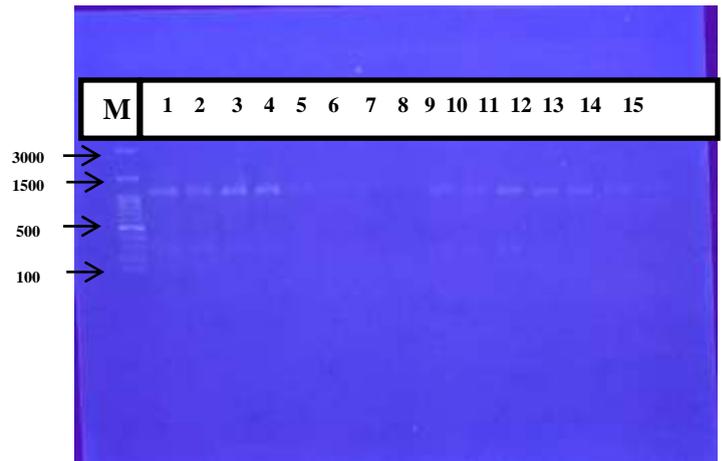


Gambar. 3 Hasil Uji Kualitas DNA pada Gel Agarose

Keterangan Gambar 3 : M: *Marker ladder* Merk Genaid, Lajur 16 sampai dengan 30: kode sumur gel agarose, P: kode probandus mahasiswa

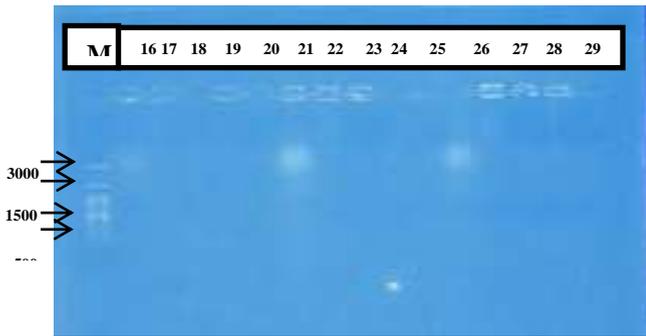
perokok.

Gambar 3. menunjukkan bahwa ada 15 sampel yang tidak menunjukkan pendaran pita DNA sama sekali. Hasil elektroforesis pada probandus mahasiswa bukan perokok dapat dilihat pada Gambar 4 dan 5 berikut.



Keterangan Gambar 4 : M: *Marker ladder* Merk Genaid, Lajur 1 sampai dengan 15: kode sumur gel agarose yang masing-masing dimasukkan sampel epitel mukosa mulut hasil ekstraksi dari probandus, BP: kode probandus mahasiswa bukan perokok.

Hasil uji kualitas DNA dengan gel agarose 1% pada Gambar 4. merupakan kualitas DNA dari 15 probandus mahasiswa bukan perokok. Gambar 4. Menunjukkan bahwa ada 8 sampel (1,2,3,4,11,12,13 dan 14) yang memiliki pendaran pita DNA dan 2 sampel (9 dan 10) memiliki pendaran pita DNA namun tidak jelas dan 5 sampel (5,6,7,8 dan 15) tidak memiliki pendaran pita DNA sama sekali. Hasil elektroforesis pada probandus mahasiswa bukan perokok (probandus 1 sampai dengan 15) menunjukkan pendaran pita DNA pada 3000bp- 1000 bp.



Gambar 5. Hasil Uji Kualitas DNA pada Gel Agarose

Keterangan Gambar 5: M: *Marker ladder* Merk Genaid, Lajur 16 sampai dengan 30: kode sumur gel agarose yang masing-masing dimasukkan sampel epitel mukosa mulut hasil ekstraksi dari probandus.

Hasil uji kualitas DNA dengan gel agarose 1% pada Gambar 5. merupakan kualitas DNA dari 15 probandus mahasiswa bukan perokok. Gambar 5. Menunjukkan bahwa pendaran pita DNA hanya ditunjukkan oleh sampel 21 dan 26. Hasil elektroforesis pada probandus mahasiswa bukan perokok (probandus 16 sampai dengan 30) menunjukkan pendaran pita DNA pada 3000bp.

PEMBAHASAN

Kuantitas DNA pada Mahasiswa Perokok dan bukan Perokok

Jumlah rata-rata konsentrasi DNA probandus mahasiswa perokok dan probandus mahasiswa bukan perokok menunjukkan kuantitas DNA yang berbeda secara statistik ($P < 0,01$) yaitu sebesar 1,96 ng/ μ L pada probandus mahasiswa perokok dan sebesar 6,92 ng/ μ L pada probandus mahasiswa bukan perokok. Jumlah konsentrasi DNA pada probandus mahasiswa bukan perokok lebih tinggi dibandingkan dengan jumlah konsentrasi DNA pada probandus

mahasiswa perokok. Hasil yang berbeda nyata tersebut dapat disebabkan oleh rangsangan asap rokok yang menyebabkan kerusakan pada bagian mukosa mulut yang terpapar. Dengan adanya paparan asap rokok dapat menyebabkan iritasi kimia pada mukosa mulut. Hal ini disebabkan karena rongga mulut merupakan bagian tubuh yang pertama kali terpapar asap rokok, sehingga mukosa mulut menjadi bagian yang sangat mudah terpapar efek rokok dan menjadi tempat penyerapan zat hasil pembakaran rokok.

Menurut Rahma, (2016) zat karsinogenik tembakau dan asap rokok merusak gen yang mengakibatkan kerusakan DNA sehingga memperlambat siklus sel dan terhambatnya regenerasi DNA dan hilangnya fungsi apoptosis yang utama Hal tersebut dapat menyebabkan sedikitnya sampel yang dapat diperoleh pada saat pengambilan sampel sehingga mempengaruhi rendahnya konsentrasi yang diperoleh dari probandus mahasiswa perokok. Hasil perbedaan yang nyata yang diperoleh pada penelitian ini didukung penelitian Patel, et al., (2008) yaitu paparan terhadap asap rokok memiliki hubungan yang kuat dengan kerusakan DNA yang dipicu oleh cekaman oksidatif (oxidative stress) dan karsinogenesis karena radikal bebas yang terdapat pada rokok dapat menyerang molekul penting seperti DNA, protein dan lipid.

Konsentrasi DNA yang diperoleh dari mahasiswa perokok (Tabel 1) yaitu - 0,05 ng/ μ L dan merupakan konsentrasi terendah yang menandakan sangat sedikitnya jumlah DNA yang dihasilkan oleh sampel mukosa mulut sehingga tidak dapat terdeteksi oleh spektrofotometer dan diperoleh konsentrasi 5,66 ng/ μ L yang merupakan konsentrasi tertinggi. Sedangkan pada probandus mahasiswa

bukan perokok (Tabel 1) yaitu sebesar 1,80 ng/ μ L yang merupakan konsentrasi terendah dan 53,80 ng/ μ L yang merupakan konsentrasi tertinggi. Pada penelitian ini sampel DNA dari sel epitel probandus perokok (9P, 22P, 29P, dan 30P) diperoleh konsentrasi dengan jumlah yang sangat sedikit yaitu dibawah 1. Hal tersebut dapat disebabkan penanganan sampel yang kurang tepat dan juga dipengaruhi penyimpanan sampel karena pada penelitian ini tidak semua sampel epitel dari swab mukosa mulut yang diperoleh kemudian langsung diekstraksi di laboratorium. Ada beberapa sampel yang disimpan terlebih dahulu yaitu sampel 3BP, 4BP, 10BP, 11BP, 20BP, 5P, 8P, 9P, 21P, 22P, 24P, 29P, dan 30P. Penyimpanan sampel tersebut dilakukan karena faktor pengumpulan sampel yang didapat tidak merata dalam sehari atau dapat dikatakan bahwa jumlah sampel belum memenuhi jumlah yang cukup untuk dilakukan ekstraksi. Adanya aktivitas mikroba memungkinkan DNA terdegradasi.

Hasil negatif pada konsentrasi (29P) menunjukkan bahwa sangat sedikitnya sampel DNA yang didapat sehingga tidak terdeteksi oleh Spektrofotometer. Hal tersebut juga dapat dipengaruhi oleh kondisi sampel, cara penyimpanan sampel dan penanganan sampel yaitu faktor pada saat ekstraksi. Pada penelitian ini beberapa sampel disimpan terlebih dahulu yang disebabkan oleh faktor sulitnya mendapatkan probandus. Komalasari (2009), menyatakan bahwa konsentrasi hasil ekstraksi DNA dipengaruhi oleh dua faktor yaitu kecepatan ekstraksi dan komposisi lisis buffer. Pada penelitian ini hasil konsentrasi DNA yang rendah sangat dipengaruhi oleh keadaan sampel, yaitu

pada sampel 3BP, 4BP, 10BP, 11BP, 20BP, 5P, 8P, 9P, 21P, 22P, 24P, 29P, dan 30P saat penyimpanan sampel ini mengalami kesalahan teknis pada listrik sehingga menyebabkan suhu pada tempat penyimpanan tidak bekerja secara optimal. Kesalahan pada penyimpanan mempengaruhi kondisi sampel sehingga pada beberapa sampel mengalami pertumbuhan mikroba. Pertumbuhan mikroba bergantung pada kelembaban yang dapat menyebabkan terjadinya degradasi DNA. Cara pengambilan dan penyimpanan sampel pada penelitian ini adalah diambil dengan Cotton swab kemudian dimasukkan ke dalam tube dan disimpan pada suhu -22oC. Jumlah rata-rata konsentrasi yang diperoleh pada penelitian ini dapat dikatakan memiliki nilai yang rendah dibandingkan dengan penelitian sebelumnya. Penelitian Rahmah dkk., (2016) diperoleh hasil rata-rata konsentrasi DNA dari buccal swab sebesar 19,60 \pm 1,81 pada perokok aktif dan sebesar 14,47 \pm 1,61 pada perokok pasif. Berdasarkan penelitian Emanuella dkk., (2017) diperoleh rata-rata konsentrasi DNA yang berasal dari swab mukosa mulut sebesar 17,8 ng/ μ L.

Rata-rata kemurnian DNA pada penelitian ini yaitu 2,0 pada mahasiswa perokok dan 1,1 pada mahasiswa bukan perokok. Kemurnian DNA pada probandus mahasiswa perokok dapat dikatakan relatif murni karena nilai rasio yang diperoleh adalah sebanyak 2,0. Jika sampel yang mempunyai hasil rasio sekitar 1,8 atau mendekati 1,8 yaitu sampel DNA dikatakan relatif murni (Garbieri et al., 2017). Hal ini sesuai dengan Murtiyaningsih (2017) yang menyatakan bahwa hasil isolasi DNA dikatakan murni apabila rasio perbandingan A260 nm dan A280 nm adalah 1,8-2,0. Kemurnian DNA

yang diperoleh dari hasil kuantifikasi pada probandus mahasiswa bukan perokok belum dapat dikatakan murni karena nilai rasio kemurnian yang diperoleh di bawah atau tidak mendekati 1,8.

Kemurnian yang rendah pada kuantifikasi DNA ini sangat dipengaruhi oleh penanganan sampel. Hal ini sesuai dengan Gaurav (2012) yang menyatakan jika nilai rasio A260:A280 melebihi 2,0 maka sampel yang diujikan tersebut terkontaminasi oleh RNA. Sedangkan jika nilai rasio A260:A280 kurang dari 1,8 maka sampel yang diuji masih mengandung kontaminan protein, fenol atau zat-zat yang digunakan dalam metode ekstraksi dan jumlah DNA sampel yang diuji terlalu sedikit ($> 10 \text{ ng}/\mu\text{L}$) pada penelitian ini jumlah sampel yang diujikan pada spektrofotometer adalah sebanyak 4 μL . Pada probandus mahasiswa perokok terdapat rasio A260:A280 yang memiliki nilai negatif (22P, 24P, 29P) yang menandakan sangat sedikitnya jumlah DNA hasil ekstraksi yang dihasilkan oleh sampel mukosa mulut sehingga tidak dapat terdeteksi oleh Spektrofotometer, karena Spektrofotometer memiliki limit deteksi jumlah DNA (Marzuki, 2011).

Kualitas DNA pada Mahasiswa Perokok dan Bukan Perokok

DNA hasil ekstraksi dianalisis menggunakan gel agarose dan divisualisasikan menggunakan UV-Transilluminator. DNA yang berhasil diisolasi ditunjukkan dengan pita DNA tegas dan jelas yang berpendar di atas gel pada saat disinari sinar ultraviolet. Smear yang nampak di bawah dekat pita DNA menunjukkan bahwa DNA yang diisolasi tidak utuh atau patah-patah, sedangkan penampakan smear yang terletak pada

bagian terbawah setiap lajur menunjukkan adanya kontaminasi berupa RNA. Hasil elektroforesis DNA menggunakan gel agarose menunjukkan bahwa pada probandus mahasiswa perokok tidak menunjukkan pendaran pita DNA sama sekali. Sedangkan pada probandus mahasiswa bukan perokok hanya ada beberapa sampel yang menghasilkan pendaran pita DNA yang smear. Hal ini terjadi karena kuantitas DNA yang sangat sedikit, mengalami kontaminasi serta degradasi. Sesuai dengan penelitian yang ada bahwa pita DNA yang smear dapat disebabkan adanya banyaknya ukuran DNA yang pendek-pendek oleh karena terdegradasinya sampel DNA (Noer dan Gustiananda, 1997).

Menurut Peccia dan Hernandez (2006), proses ekstraksi DNA merupakan proses untuk memisahkan DNA dari lisat sel seperti protein, karbohidrat, lipid, dan kontaminan lainnya yang mengakibatkan smear. Perbedaan tebal pita pada gel agarose tersebut disebabkan karena perbedaan konsentrasi DNA yang terekstraksi atau terdegradasi sehingga mempengaruhi tebal pita yang terlihat pada gel agarose tersebut (Patramurti et al., 2014). Kuantitas DNA yang rendah akan menyebabkan terbentuknya pita DNA yang tipis untuk dapat dideteksi pada gel agarose (Innis and Gelfand, 1990). Irnawati (2003) menyatakan bahwa pita DNA yang menyebar menunjukkan adanya ikatan antar molekul DNA yang terputus pada saat proses ekstraksi berlangsung, sehingga genom DNA terpotong menjadi bagian yang lebih kecil. Hal tersebut dapat disebabkan oleh adanya gerakan fisik yang berlebihan yang terjadi pada proses pemipetan sampel kedalam sumur gel agarose.

KESIMPULAN

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini adalah:

1. Kuantitas DNA pada probandus mahasiswa perokok diperoleh sebesar 1,96 ng/ μ L, hasil rata-rata konsentrasi tersebut dapat dikatakan sangat rendah dan menunjukkan bahwa pendaran pit DNA tidak terlihat jelas pada beberapa sampel bahkan pada sampel lainnya tidak ada pendaran pita DNA sama sekali.
2. Kuantitas DNA pada probandus mahasiswa bukan perokok diperoleh sebesar 6,92 ng/ μ L dan kualitas DNA sel epitel mukosa mulut menunjukkan ada pendaran pita DNA yang tidak terlihat jelas dan pada sampel lainnya menunjukkan pendaran pita DNA yang *smear*.

DAFTAR PUSTAKA

- Agus, J. S. 2006. Pengaruh Paparan Iklan Dengan Perilaku Merokok Pada Siswa SMA Di Kota Yogyakarta, Yogyakarta : Fakultas Kedokteran.
- Aprina, A., A.U. Lintang., dan D Saraswati. 2012. Gambaran Kebiasaan Merokok Dengan Profiltekanan Darah Pada Mahasiswa Perokok Laki-Laki Usia 18-22 Tahun. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*. 1(2): 251-261.
- Belgrader, P., and M.A. Marino. 1997. Automated sample processing using robotics for short tandem repeat polymorphisms by capillary electrophoresis. *Laboratory Robotics and Automation*, 9 : 3-7.
- Burgoyne, L., J. Kijjas., P. Hallsworth., and J. Turner. 1994. Safe collection, storage and analysis of DNA from blood. In *Proceedings of the fifth international symposium on human identification*. (p. 163) Madison, Wisconsin: Promega Corporation.
- Butler, J. 2005. *Forensic DNA typing: biology, technology and genetics of STR markers*. 2nd ed. San Diego: Academic Press. 38.
- Butler, J.M. 2010. *Advanced topics in Forensic DNA Typing: Methodology*. Burlington, MA:Elsevier Academic Press.
- Butler, J.M. 2012. *Advanced topics in Forensic DNA Typing: Interpretation*. Burlington, MA:Elsevier Academic Press.
- Emanuella, D., D. Dhanardhono., dan T.Saebani. 2017. Perbedaan Kuantitas DNA yang Diekstraksi Dari Buccal Swab dengan Jumlah Usapan yang Berbeda. *Jurnal Kedokteran Diponegoro*. 6(20): 443-450.
- Fatchiyah, E.L.A., S. Widyanti., dan S. Rahayu. 2011. *Biologi Molekular Prinsip Dasar Analisis*. Erlangga. Jakarta.
- Fatchiyah A., L.E. Widyarti., dan S. Rahayu . 2011. *Modul Pelatihan Analisis Fingerprinting DNA Tanaman Dengan Metode RAPD*. Laboratorium Sentral Ilmu Hayati Universitas Brawijaya. Erlangga. Malang.
- Fatchiyah A., L.E. Widyarti., dan S. Rahayu . 2011. *Biologi Molekular Prinsip Dasar Analisis*. Erlangga. Malang
- Fitria, Triadhini RINKR., , J.C. Mangibulude., F.F Karwur. 2013. Merokok dan Oksidasi DNA. *Sains Medika*. 5(2):113-20.

- Garbieri, T. F., D.T Brozoski., T.J. Dionísio., C.F. Santos., & L.T. Neves. 2017. Human DNA extraction from whole saliva that was fresh or stored for 3, 6 or 12 months using five different protocols. *Journal of Applied Oral Science*, 25(2), 147–158.
- Gaurav, S. and R. Paul. 2012. A comparative study on UV spectrophotometric quantification of DNA extracted from human saliva. Forensic Medicine Authority.
- Innis, A.M., and H.D. Gelfand. 1990. “Optimization of PCRs”, PCR Prof^oCols: A Guide to Methods and Applications.
- Peccia, J., and M. Hernandez. 2006. Incorporating Polymerase Chain Reaction-Based Identification Population Characterization and Quantification of Microorganisms Into Aerosol: A Review. *Atmospheric Environment*. 40: 3941-3961.
- Kamath, J. V. 2012. Review Article: Comparative Study of Carriers Used in Proniosomes. *International Journal of Pharmaceutical and Chemical Sciences*, 1(1), 164–173.
- Patel, B.P., U.M. Rawal et al., 2008. Tobacco, antioxidant enzymes, oxidative stress, and genetic susceptibility in oral cancer. *Am.J. Clin. Oncol*, 31: 454-459.
- Patramurti, C., Sugiyanto, A. Nurrochmad., and S. Martono. 2014, Polymorphism of Cytochrome P450 2A6 (CYP2A6*1 and CYP2A6*4) Among Javanese Indonesian Smoker and Non Smoker, *Indonesian Journal of Pharmacy*, 26(1), 11-19.
- Phillips, K., N. McCallum, and L. Welch. 2012. A comparison of methods for forensic DNA extraction: Chelex-100 and the QIAGEN DNA investigator kit (manual and automated). *Forensic Science International: Genetics*, 6(2), 282-285
- Marzuki, A. 2012. Kimia Analisis Farmasi. Makasar : Dua Satu PressIndo.
- Murtiyaningsih, H. 2017. Isolasi Dna Genom Dan Identifikasi Kekerabatan Genetik Nanas Menggunakan RAPD (Random Amplified Polimorphic. *Agrotrop*, 15(1), 84–93.
- Noer, A.S., and M. Gustiananda. 1997. PCR Tanpa Isolasi DNA Dari Sel Epitel Rongga Mulut . *JMS Journal*. Vol.2. No.1. Hal.35-45. ITB Press, Bandung
- Rahmah, N., N. Dewi., dan S. D Raharja. 2016. Analisis Sitogenik Mikronukleus Mukosa Bukal Pada Perokok Aktif Dan Pasif. *Jurnal Kedokteran Gigi*. vol I. No 1.: 15 – 20
- Sambrook, J. and D.W. Russell. 1989. *Molecular cloning: a laboratory manual*. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Sambrook, J., T. Maniatis., and E.F. Fritsch. 1983. *Molecular Cloning : A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Santrock. 2005. *Adolescence*. New York: John Wiley and Sons
- Stray, J.E., and J.G. Shewale. 2010. *Extraction of DNA from human*

remains. *Forensic Science Review*,
22: 177–185.

Wahab, R. M. A., Nasri, F. A. M., Abidin,
I. Z. Z., Ariffin, Z. Z., Yazid, M.
D., Kesan Penyimpanan Sampel
Air Liur Terhadap Kualiti DNA
Genom. *Sains Malaysiana*, 46(6),
909–915.

Yuwono, T. 2005. *Biologi Molekular*.
Jakarta: Penerbit Erlangga. 135-
136.