

Saliva sebagai sumber DNA genom manusia

^{1,2}Abidah Nur, ^{3*}Zulham Yamamoto

¹ Program Studi Ilmu Biomedik, Fakultas Kedokteran, Universitas Sumatera Utara

² Balai Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Aceh, Kementerian Kesehatan Republik Indonesia

³ Departemen Histologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Sumatera Utara

*E-mail: zulham@usu.ac.id

Abstrak. Genom adalah keseluruhan DNA yang ada dalam suatu sel, berisi seluruh sekuens DNA secara utuh. Genom manusia mengandung informasi lengkap tentang biologi manusia seperti metabolisme, fisiologi, biologi seluler, patologi termasuk penyakit menular, evolusi, dan sebagainya. Saliva adalah cairan tubuh yang berasal dari kelenjar ludah dan mengandung sel-sel dan flora yang dapat digunakan untuk mendeteksi penyakit. Keberadaan mikroorganisme oral, protein, dan protease dalam saliva merupakan ancaman terhadap DNA genom manusia. Mikroorganisme oral mengandung enzim yang mampu mendegradasi DNA manusia. Penggunaan kit atau penambahan zat sterilisasi kepada saliva adalah penting untuk preservasi DNA manusia. Penyimpanan saliva menggunakan kit komersial memberikan hasil yang konsisten baik dalam jumlah maupun sterilitas DNA, bahkan dapat disimpan dalam waktu yang lama. Penggunaan saliva sebagai sampel biologi sangat efisien dan praktis dibanding dengan darah, *buccal swab*, dan biopsi jaringan. Pengambilan saliva bersifat tidak invasif, tidak memerlukan tenaga terampil, dan dapat dikumpulkan secara berulang tanpa menyakiti subjek, tidak terdenaturasi (stabil selama 24 jam dalam suhu kamar) serta stabil selama satu minggu pada suhu 4°C. Tantangan bagi peneliti adalah strategi untuk sterilisasi saliva dari molekul pengganggu DNA manusia. Mikroorganisme oral dapat dibunuh menggunakan antimikroba sementara aktivitas DNase dapat dihilangkan dengan penambahan inhibitor DNase.

Kata kunci: Genom, saliva, sampel biologi.

Abstract. Genome is the entire DNA in a cell, containing the entire DNA sequence as a whole. The human genome contains complete information about human biology such as metabolism, physiology, cellular biology, pathology including infectious diseases, evolution, and so on. Saliva is a body fluid that comes from salivary glands and contains cells and flora that can be used to detect diseases. The presence of oral microorganisms and proteins including proteases in saliva poses a threat to the DNA of the human genome. Oral microorganisms contain enzymes that has ability in human DNA degradation. The use of commercial kit or addition of sterilizing agents into saliva is critical to preservation of human DNA. Salivary storage using commercial kits provides consistent results in both the amount and sterility of DNA, and can be stored for a long time. The use of saliva as a biological sample is very efficient and practical compared to blood, buccal swabs, and tissue biopsies. Saliva collection is non-invasive, does not require skilled personnel, and can be collected repeatedly without harming the subject, is not denatured (stable for 24 hours at room temperature) and stable for one week at 4°C. The challenge for researchers is a strategy for sterilizing saliva from molecules that may disrupts human DNA. Oral microorganisms can be killed using antimicrobials while DNase activity can be minimized by the addition of DNase inhibitors.

Keywords: *biological sample, genome, saliva*

DNA dan genom manusia

Genom adalah keseluruhan *deoxyribonucleic acid* (DNA) yang ada dalam suatu sel, berisi seluruh sekuens DNA secara utuh (Nelson and Cox, 2008). DNA terdiri dari gula (deoksiribosa), basa nitrogen (adenin, guanin, sitosin, dan timin), dan fosfat. Gula dari DNA mengalami kekurangan satu atom oksigen pada atom karbon 2' (H bukan OH)

sehingga membedakan DNA dari RNA (Youssef, Budd and Bielawski, 2019). Susunan tiap DNA adalah sama, yang membedakan hanyalah pada susunan basa. Hal ini merupakan karakteristik dari asam nukleat (Berg *et al.*, 2012).

DNA pada sel eukariotik berasosiasi dengan berbagai jenis protein dengan membentuk kromatin yang tersebar dalam nukleus. Protein histon mengikat struktur DNA dengan membentuk kompleks yang sangat stabil. DNA yang sangat panjang dapat masuk dalam nukleus yang hanya berukuran 5 mm dengan adanya kondensasi. Tepat sebelum memasuki fase mitosis (pembelahan sel), kromatin berkondensasi dan membentuk kromosom (Devlin, 1997).

Genom manusia terdiri dari 3×10^9 pasang basa nukleotida yang dirakit dalam 23 pasang kromosom (Devlin, 1997). Genom manusia mengandung informasi lengkap tentang biologi manusia seperti metabolisme, fisiologi, biologi seluler, patologi termasuk penyakit menular, evolusi, dan sebagainya (Weissenbach, 2016) untuk memahami proses selular dan molekuler. Kesehatan dan penyakit manusia dapat dideteksi dari susunan genom dengan mempelajari struktur protein yang dihasilkan oleh sel (Wilson and Walker, 2010). Genom manusia memiliki 20-25 ribu gen penyandi protein (Abdellah *et al.*, 2004) dengan regulasi sekuens berbeda (Leban and Flat, 1871; Devlin, 1997). Sebagian besar DNA genom manusia tidak bisa diterjemahkan karena tidak sesuai dengan kode DNA untuk protein (*noncoding DNA*) dan berada di luar gen (Swanson, Kim and Glucksman, 2010).

Pengurutan seluruh DNA manusia dimulai tahun 1990 hingga tersusun lengkap pada tahun 2003 (Moraes and Góes, 2016). Pengurutan DNA genom manusia berkaitan dengan teknik sekuensing dan bioinformatika (Weissenbach, 2016) sehingga menghasilkan teknik biosains yang mampu mengisolasi, menganalisis, memanipulasi, dan mengeksplorasi asam nukleat. Sekuensing DNA genom manusia mengembangkan ilmu biologi baru, seperti bioteknologi, pemetaan genom, kedokteran molekuler, dan terapi gen (Wilson and Walker, 2010).

Komponen genom manusia terdiri dari gen dan non gen. Sekuensing gen meliputi faktor transkripsi, intron, ekson, dan regulasi akhir transkripsi. Proses transkripsi dimulai karena adanya faktor transkripsi untuk menghasilkan mRNA dan diakhiri dengan adanya sekuensi regulasi transkripsi. Selanjutnya mRNA mengalami proses translasi menjadi protein yang fungsional. Bagian intron adalah bagian gen yang mengandung sekuens DNA yang tidak diterjemahkan menjadi protein fungsional dan akan dibuang saat proses translasi (Swanson, Kim and Glucksman, 2010). Sebaliknya, bagian ekson diterjemahkan dalam bentuk protein yang fungsional. Bagian intron mempunyai fungsi lain yaitu mengkode ekson, meregulasi ekspresi gen (seperti *promoter*, *silencer*, dan *enhancer*), *template* awal untuk proses replikasi, dan peran struktural pada kromosom (seperti telomere dan sentromer) (Palazzo and Gregory, 2014).

Setiap manusia memiliki kemiripan sekuensi DNA hingga 99,9%. Perbedaan 0,1% sama dengan sepuluh juta varian genetik yang disebut dengan polimorfisme nukleotida tunggal (*single nucleotide polymorphisms*, SNPs) (Pace, 2007). Perbedaan utama antar genom manusia adalah adanya *noncoding DNA* yang berulang atau *short tandem repeat* (STR). Paling sedikit 30% dari sekuensi DNA manusia berulang, terdiri dari perulangan panjang dan perulangan pendek. Sekuensi yang berulang panjang mencapai 5-500 pasang basa dan sering terdapat di sentromer dan telomer dari kromosom dengan jumlah 1-10 juta per genom haploid. Sekuensi yang sedikit berulang berjumlah 10 juta per genom haploid dan diselingi oleh sekuensi DNA yang unik yang dapat diterjemahkan oleh enzim polimerase 2 (Rodwell *et al.*, 2015). Penentuan identitas seseorang dapat ditentukan dengan deteksi STR atau disebut dengan *DNA fingerprinting* (Lieberman and Ricer, 2014).

Sumber DNA manusia asal saliva

Sumber sel yang digunakan untuk mendeteksi DNA manusia, termasuk sel eukaryota, harus memiliki nukleus (Devlin, 1997). Darah menjadi sampel biologi standar untuk identifikasi *whole genome sequencing* (WGS) dan sering digunakan untuk penelitian dan aplikasi klinis (Yao *et al.*, 2020). Komponen darah yang mengandung DNA adalah sel darah putih (leukosit) (Trost *et al.*, 2019). Darah mengandung 180-314 µg/mL DNA manusia (Yao *et al.*, 2020).

Selain darah, DNA dapat diperoleh dari sel epitel (Trost *et al.*, 2019). Salah satu sumber sel epitel adalah saliva. Saliva adalah cairan tubuh yang berasal dari kelenjar ludah untuk homeostasis rongga mulut. Saliva melindungi mukosa mulut dari asam, baik yang berasal dari makanan maupun dari sisa makanan yang dimuntahkan (Dawes *et*

al., 2015). Saliva utuh (*whole saliva*) berasal dari kelenjar ludah mayor, kelenjar ludah minor, cairan krevikular gingiva, sekret hidung, serum dan darah dari luka di mulut, bakteri, virus, jamur, sel epitel, komponen seluler lain, dan sisa makanan (Pandeshwar and Das, 2014). Saliva mengandung 94-99% air dengan komposisi dan ekskresi yang tergantung pada umur, jenis kelamin, dan faktor stimulasi. Pada orang sehat, produksi saliva sekitar 600 mL per hari dengan rata-rata 0,3-0,4 mL per menit (Chojnowska *et al.*, 2018; Roblegg, Coughran and Sirjani, 2019; Vila *et al.*, 2019).

Saliva merupakan cairan tubuh kompleks yang disuplai secara ekstensif oleh darah. Akibatnya molekul dalam plasma seperti protein, DNA, dan RNA juga terdapat dalam saliva (Majem *et al.*, 2015). Saliva mengandung sel epitel dan leukosit yang dapat digunakan untuk deteksi DNA. Kedua jenis sel tersebut dalam saliva dapat mencapai $4,3 \times 10^5$ untuk sel epitel dan $1,36 \times 10^5$ untuk leukosit (Garbieri *et al.*, 2017). Koni *et al.* (2011) menunjukkan keberadaan genom manusia dalam saliva dari 14.019 sampel saliva anak berusia 2-9 tahun.

Potensi saliva sebagai sampel biologi uji diagnostik

Saliva mengandung berbagai elemen dalam kadar sesuai kebutuhan tubuh. Fungsi saliva sangat luas, dari membantu proses awal pencernaan hingga kebersihan mulut secara umum. Kekurangan volume sekresi saliva menurunkan kemampuan individu dalam proses pencernaan dan kebersihan mulut (Vera-Sigüenza *et al.*, 2020). Metabolit, protein, elektrolit bahkan mikroorganisme yang terdapat dalam saliva dapat dijadikan indikator kondisi kesehatan individu. Dengan demikian, saliva dapat digunakan sebagai cairan biologis untuk mendeteksi suatu penyakit (Pandit, Cooper-White and Punyadeera, 2013), baik penyakit menular, sistemik, degeneratif, maupun malignansi (Nunes, Mussavira and Bindhu, 2015) (Tabel 1).

Tabel 1. Penyakit yang dapat didiagnosis menggunakan sampel saliva.

Nama Penyakit	Desain	Jumlah sampel	Metode Pemeriksaan	Molekul target	Referensi
Gagal ginjal kronis (GGK)	<i>Cross sectional</i>	Kontrol 47 orang GGK 34 orang Pasien hemodialisis 38 orang	Elisa (IgA dan IgG) Griess reagent (Nitric oxide) Agglutination tests (CRP); dan total proteins (Bradford assay)	IgA IgG C reactive protein (CRP) Nitric oxide (NO)	(Pallos <i>et al.</i> , 2015)
Leukemia	<i>Cross sectional</i>	7 Pasien leukemia 20 orang sehat	qRT-PCR assay	β -actin mRNA BCR-ABL PML-RAR α AML-ETO	(Chen <i>et al.</i> , 2014)
Diabetes melitus	-	120 Pasien DM tipe 2	Variant II brand team Bio-Rad (HbA1c) Elisa (α -2-macroglobulin)	HbA1c α -2-macroglobulin	(Aitken <i>et al.</i> , 2015)
Kanker payudara	Kasus-kontrol	Kasus 26 wanita Kontrol 35 wanita	Elisa	CA15-3	(Agha-Hosseini, Mirzaii-Dizgah and Rahimi, 2009)
Periodontitis	-	Periodontitis agresif 31 orang Periodontitis kronik 25 orang Orang sehat 25 orang	<i>Sequencing</i>	<i>Porphyromonas gingivalis</i> (16S rRNA)	(Damgaard <i>et al.</i> , 2019)

Karies gigi	Kohort	39 Anak-anak (21 karies berat dan 18 tanpa karies) 33 Ibu (17 karies berat dan 16 tanpa karies)	<i>Sequencing Bioinformatics analysis</i>	<i>Candida albicans</i>	(Xiao et al., 2018)
-------------	--------	--	---	-------------------------	---------------------

Mikroorganisme dalam saliva dapat berupa bakteri non patogen dan patogen yang dapat menjadi penyebab penyakit sistemik dan non sistemik. Periodontitis merupakan penyakit yang disebabkan oleh bakteri patogen dalam saliva dan menyebabkan progresitas inflamasi sehingga berpengaruh pada fungsi sel endotel (Samaranayake and Matsubara, 2017). *Porphyromonas gingivalis* merupakan bakteri patogen dalam saliva yang menjadi indikator gingivitis dan periodontitis. Pada pasien periodontitis, respon imun seperti Toll-like receptor-4, IL-18, asam urat, aspartate transaminase, dan prokalsitonin dalam saliva lebih tinggi dari individu sehat sebagai akibat dari adanya bakteri patogen (Zhang et al., 2016).

Sistem imunitas tubuh akan merespons bila bakteri patogen mengakibatkan sitokin proinflamasi (interleukin-6 dan tumor necrosis factor- α) mencapai kadar tinggi dalam darah. Hal ini dapat menghambat fungsi reseptor insulin dan berpengaruh pada penyakit diabetes (Samaranayake and Matsubara, 2017). Di samping itu, kadar α -2-macroglobulin saliva berbanding lurus dengan HbA1c. Metabolit α -2-macroglobulin dalam saliva dapat dijadikan kontrol glikemik pasien diabetes (Zhang et al., 2016).

Stres pada manusia secara fisiologi memicu aktivasi sistem saraf autonom dan *hypothalamic-pituitary-adrenal* yang ditandai dengan meningkatnya biomarker kortisol dan α -amilase (Bali and Jaggi, 2015). Produksi α -amilase dan kortisol dalam saliva dikaitkan dengan faktor stress yang berdampak pada indikator klinis dan subklinis penyakit kardiovaskuler dan kardiometabolik (Cozma et al., 2017).

Biomarker mRNA untuk kanker dalam saliva dapat ditunjukkan oleh *proto-oncogene* B-Raf (BRAF), *Cyclin* (CCNI), *epidermal growth factor receptor* (EGRF), *fibroblast growth factors* 19 (FGF19), *fibroblast growth factor receptor substrate* 2 (FRS2), *growth regulation by estrogen in breast cancer* 1 (GREB1), dan *leucine zipper putative tumor suppressor* 1 (LZTS1). Model regresi logistik menunjukkan lima dari tujuh biomarker dapat mendeteksi kanker paru dengan nilai *area under curve* (AUC) 0,925, sensitivitas 93,75% dan spesifisitas 82,81%. Selain kanker paru, gen BRAF, CCNI, EGRF, FGF19, FRS2, GREB1, dan LZTS1 juga dijadikan biomarker untuk kanker pankreas, kanker ovarium, kanker payudara, diabetes, dan penyakit paru obstruktif kronik (PPOK) (Zhang et al., 2012). Biomarker *methyl-CpG binding domain protein 3-like* 2 (MBD3L2), *proto-oncogen* (KRAS), *stromal interaction molecule* 2 (STIM2), *dmx-like* 2 (DMXL2), *activin a receptor type* 1 (ACRV1), *duchenne muscular dystrophy* (DMD), *ABL 1 enzyme substrate* 1 (CABLES1), *thymidine kinase* 2 (TK2), *glioma tumor suppressor candidate region gene* 2 (GLTSCR2), *cyclin-dependent kinase-like* 3 (CDKL3), *translationally-controlled tumor peotein* (TPT1), dan *dolichol-phosphate mannosyltransferase* (DPM1) dalam saliva mempunyai nilai AUC 0,682-0,823 pada kanker pankreas dibandingkan dengan individu sehat (Zhang et al., 2010).

Saliva sebagai sumber sampel biologi

Kekurangan

Pengumpulan saliva tanpa stimulasi akan menghasilkan sedikit volume saliva. Hal ini menjadi tantangan bagi petugas untuk mencari strategi alternatif memperbanyak saliva. Agar saliva yang dikumpulkan lebih banyak, beberapa langkah dapat dilakukan di antaranya mengunyah permen karet (Gomar-Vercher et al., 2018), mencicipi bahan yang asam (asam sitrat), atau menguyah kain kasa (Xu, Laguna and Sarkar, 2019). Pengumpulan saliva dengan meludah mungkin menemui hambatan pada bayi dan pasien yang tidak sadar sehingga satu *sponge* dapat digunakan untuk mengumpulkan saliva (Koni et al., 2011).

Saliva mengandung mikroorganisme oral yang sering disebut dengan flora normal. Namun demikian, flora normal dalam saliva mudah mengkontaminasi oleh zat lain dari kelenjar ludah mayor, kelenjar ludah minor, cairan krevikuler gingiva hingga darah karena luka di mulut. Aktivitas makan menjadikan kontaminasi saliva dengan sisa

makanan tidak bisa dihindari, termasuk bakteri, virus, jamur, dan zat lainnya (Pandeshwar and Das, 2014). Keberadaan imunoglobulin, hormon, dan enzim dalam saliva sebagai cara melindungi tubuh dari serangan patogen dan membantu mencerna makanan yang akan diolah lebih lanjut ke lambung (Dawes, 2003; Garbieri et al., 2017).

Keberadaan mikroorganisme dan protein dalam saliva merupakan ancaman terhadap DNA genom manusia. Bakteri mengandung enzim sialidase, N-acetyl- β -D-gluconidase, β -D-galactosidase, dan α -1-fucosidase yang mampu mendegradasi gula glikoprotein dalam saliva (Dash and Das, 2018) sehingga mendegradasi DNA manusia (Dawes, 2003; Garbieri et al., 2017).

Saliva mengandung enzim protease dari bakteri yang dapat mendegradasi protein saliva. Protease adalah enzim yang memecah protein menjadi peptida dan asam amino yang lebih kecil (Chmelař et al., 2017). Adanya protease mengaktifkan *Caspase-activated DNase* (CAD), satu nuklease yang bertanggung jawab dalam fragmentasi DNA (Kolarevic et al., 2014). Mekanisme degradasi DNA diinisiasi oleh pengaktifan CAD. CAD diaktifkan oleh transduksi sinyal. Caspase 3 adalah kunci pensinyalan apoptosis kanonik yang mendorong perubahan sitosol dan nukleus yang diperlukan untuk pembongkaran seluler. Caspase 3 mengaktifkan CAD melalui inaktivasi inhibitor CAD (ICAD). Selanjutnya caspase menonaktifkan perbaikan DNA dan mencegah perbaikan genom yang terfragmentasi (Ohkouchi et al., 2013).

Deoxyribonucleases (DNases) adalah kelas enzim yang mengkatalisis hidrolisis DNA (Kolarevic et al., 2014). Konsentrasi rata-rata DNase dalam saliva parotis manusia adalah 2000 U/mg atau setara dengan 28,8 ng/mL (Yaegaki et al., 1982). Aktivitas DNase pada *whole saliva* manusia sebesar $0,54 \pm 0,06$ KU/mg (Lomate and Bonning, 2016). Flora normal dalam saliva dapat meningkatkan aktivitas DNase bila terjadi pergeseran oleh bakteri patogen pada kasus gingivitis dan periodontitis (Konecny, 2020). Spesies bakteri di rongga mulut (Aas et al., 2005) memiliki aktivitas nuclease, termasuk *E. coli* (Samaranayake and Matsubara, 2017) dan *Streptococcus mitis* (Kilian and Tettelin, 2019).

Bakteri, virus, dan mikroorganisme lain mengandung 1-5% enzim protease. Protease mampu menghidrolisis ikatan amida dari peptida, polipeptida, dan protein (Lomate and Bonning, 2016). Aktivitas protease pada saliva mempengaruhi keberadaan DNA genom manusia oleh karena fungsinya memecah protein menjadi unit yang lebih sederhana. Oleh sebab itu, terdapat teknik penambahan penghambat protease dan zat penstabil, yaitu aprotinin, leupeptin, antipain, pepstatin A, *phenyl methyl sulfonyl fluoride*, EDTA, dan thimerosal (Nunes, Mussavira and Bindhu, 2015). Pemberian penghambat protease dalam saliva bertujuan untuk menghambat degradasi DNA dan kromatin, sehingga saliva steril dari berbagai molekul DNase (Rosenberg, 1987).

Penggunaan kit atau penambahan zat sterilisasi kepada saliva adalah penting untuk preservasi DNA manusia. Saat ini penyimpanan saliva menggunakan kit komersial memberikan hasil yang konsisten baik secara jumlah maupun sterilitas DNA bahkan dapat disimpan dalam waktu yang lama (Garbieri et al., 2017). Saliva yang steril dari molekul pengganggu genom manusia sangat membantu petugas laboratorium dalam mendapatkan DNA genom manusia selama dalam perjalanan hingga tiba di laboratorium untuk proses ekstraksi.

Kelebihan

Saliva merupakan cairan tubuh manusia yang dapat dijadikan *biomarker* untuk mendeteksi berbagai masalah kesehatan manusia. Penyakit sistemik, penyakit menular, dan ilmu forensik sudah menggunakan saliva sebagai sampel dalam banyak penelitian (Pertiwi, 2015). Penggunaan saliva sebagai sampel penelitian merupakan pilihan yang tepat mengingat banyak metabolit yang dapat mewakili kondisi individu.

Penggunaan saliva sebagai sampel biologi sangat efisien dan praktis dibanding dengan darah, *buccal swab*, dan biopsi jaringan. Pengambilan saliva sebagai sampel DNA lebih menguntungkan daripada penggunaan darah karena pengumpulan saliva bersifat tidak invasif dan tidak memerlukan tenaga terampil. Meskipun sampel darah lebih banyak mengandung DNA ($6-73 \mu\text{g/mL}$), namun baik secara kualitas maupun kuantitas sampel saliva masih sebanding dengan darah untuk identifikasi DNA (Abraham et al., 2012).

Alternatif sampel biologi saliva juga membantu pasien yang mengalami trauma terhadap jarum suntik. Sifat pengambilan saliva yang noninvasif membuat pasien lebih nyaman sehingga memudahkan petugas dalam proses

pengumpulan sampel (Burrows, Ristow and D'Amato, 2017). Di samping itu, anggaran yang diperlukan untuk pengumpulan saliva lebih rendah dibanding *buccal swab*, darah, dan biopsi (Chojnowska *et al.*, 2018).

Kelebihan lain penggunaan saliva sebagai sampel diagnostik adalah dapat dikumpulkan secara berulang (lebih dari sekali dalam sehari) tanpa menyakiti subjek, tidak terdenaturasi, dan stabil selama 24 jam dalam suhu kamar serta stabil selama satu minggu pada suhu 4°C. Pengumpulan secara berulang juga membantu petugas bila ada keadaan pengulangan pemeriksaan (Chojnowska *et al.*, 2018).

Tantangan

Whole genom sequencing (WGS) didapatkan melalui sampel darah dan sudah menjadi *gold standard*. Sampel darah memenuhi persyaratan *quality control* lebih tinggi dibanding saliva. Hal ini disebabkan mikrobioma oral yang mendegradasi DNA. Sterilisasi saliva dari mikrobioma oral akan menghasilkan WGS dengan kualitas yang baik. Diperlukan kit yang mampu menciptakan suasana steril dari mikrobioma oral dalam saliva (Yao *et al.*, 2020).

Burrows melakukan penelitian dan menciptakan formula untuk preservasi DNA yang dinamakan *FDL-storage buffer*. Penambahan *FDL-storage buffer* kepada saliva menunjukkan tidak ada tanda degradasi DNA setelah 24 bulan. Kemurnian dan konsentrasi DNA masing-masing berkisar 0,9-1,88 dan 2-88 ng/μL (Burrows, Ristow and D'Amato, 2017). Dibandingkan dengan kit preservasi Oragene OG-500 (DNA genotek), hasil ekstraksi DNA menggunakan *FDL-storage buffer* mempunyai konsentrasi lebih rendah. Namun demikian, *FDL-storage buffer* dapat digunakan untuk preservasi DNA manusia asal saliva (Burrows, Kasu and D'Amato, 2019).

Banyak faktor DNA genom manusia dapat terdegradasi dalam saliva, di antaranya mikroorganisme oral dan metabolit. Oleh sebab itu, menjadi tantangan bagi peneliti untuk menentukan strategi dalam sterilisasi saliva atau meminimalkan aktivitas molekul pengganggu DNA manusia. Mikroorganisme oral dapat disterilisasi menggunakan antimikroba. Hal yang perlu diperhatikan adalah dosis yang tepat untuk mematikan mikroba tersebut sehingga tidak lagi menjadi ancaman bagi keberadaan DNA manusia. Di samping itu, aktivitas DNase oleh metabolit dan kandungan bakteri seperti protease juga hal yang tidak bisa diabaikan. Penggunaan inhibitor DNase perlu dipertimbangkan untuk mengeliminasi DNase pengganggu pada DNA genom manusia.

Kesimpulan

Saliva sebagai sumber DNA sangat efisien dan praktis dibanding dengan darah, *buccal swab*, dan biopsi jaringan. Pengambilan saliva bersifat tidak invasif, tidak memerlukan tenaga terampil, dan tidak terdenaturasi. Keberadaan mikroorganisme oral dan aktivitas DNase sebagai pengganggu DNA manusia dalam saliva, perlu diperhatikan.

Ucapan terima kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Universitas Sumatera Utara atas dana hibah talenta skema Penelitian Tesis Magister No. 11/UN5.2.3.1/PPM/SPP-TALENTA USU/2021 yang turut membiayai penelitian ini.

Daftar Pustaka

1. Aas, J. A. *et al.* (2005) 'Defining the normal bacterial flora of the oral cavity', *Journal of Clinical Microbiology*, 43(11), pp. 5721–5732. doi: 10.1128/JCM.43.11.5721-5732.2005.
2. Abdellah, Z. *et al.* (2004) 'Finishing the euchromatic sequence of the human genome', *Nature*, 431(7011), pp. 931–945. doi: 10.1038/nature03001.
3. Abraham, J. E. *et al.* (2012) 'Saliva samples are a viable alternative to blood samples as a source of DNA for high throughput genotyping', *BMC Medical Genomics*, 5(19), pp. 1–6. doi: 10.1186/1755-8794-5-19.
4. Agha-Hosseini, F., Mirzaei-Dizgah, I. and Rahimi, A. (2009) 'Correlation of serum and salivary CA15-3 levels in patients with breast cancer', *Medicina Oral, Patologia Oral y Cirugia Bucal*, 14(10), pp. 521–524. doi: 10.4317/medoral.14.e521.
5. Aitken, J. P. *et al.* (2015) 'A-2-Macroglobulin in Saliva Is Associated With Glycemic Control in Patients With Type 2 Diabetes Mellitus', *Disease Markers*, 2015. doi: 10.1155/2015/128653.
6. Bali, A. and Jaggi, A. S. (2015) 'Clinical experimental stress studies: Methods and assessment', *Reviews in the Neurosciences*, 26(5), pp. 555–579. doi: 10.1515/revneuro-2015-0004.
7. Berg, J. M. *et al.* (2012) *Biochemistry*. Seventh. New York: W. H. Freeman and Company.

8. Burrows, A. M., Kasu, M. and D'Amato, M. E. (2019) 'Preservation of DNA integrity in biological material', *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*, 7(1), pp. 416–418. doi: 10.1016/j.fsigss.2019.10.034.
9. Burrows, A. M., Ristow, P. G. and D'Amato, M. E. (2017) 'Preservation of DNA from saliva samples in suboptimal conditions', *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*, 6(August), pp. e80–e81. doi: 10.1016/j.fsigss.2017.09.050.
10. Chen, D. et al. (2014) 'Saliva as a sampling source for the detection of leukemic fusion transcripts', *Journal of Translational Medicine*, 12(1), pp. 1–5. doi: 10.1186/s12967-014-0321-z.
11. Chmelař, J. et al. (2017) 'Protease inhibitors in tick saliva: The role of serpins and cystatins in tick-host-pathogen interaction', *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 7(MAY), pp. 1–16. doi: 10.3389/fcimb.2017.00216.
12. Chojnowska, S. et al. (2018) 'Human saliva as a diagnostic material', *Advances in Medical Sciences*, 63(1), pp. 185–191. doi: 10.1016/j.advms.2017.11.002.
13. Cozma, S. et al. (2017) 'Salivary cortisol and α -amylase: Subclinical indicators of stress as cardiometabolic risk', *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 50(2), pp. 1–8. doi: 10.1590/1414-431X20165577.
14. Damgaard, C. et al. (2019) 'Porphyromonas gingivalis in saliva associates with chronic and aggressive periodontitis', *Journal of Oral Microbiology*, 11(1). doi: 10.1080/20002297.2019.1653123.
15. Dash, H. R. and Das, S. (2018) 'Microbial Degradation of Forensic Samples of Biological Origin: Potential Threat to Human DNA Typing', *Molecular Biotechnology*, 60(2), pp. 141–153. doi: 10.1007/s12033-017-0052-5.
16. Dawes, C. (2003) 'Estimates, from salivary analyses, of the turnover time of the oral mucosal epithelium in humans and the number of bacteria in an edentulous mouth', *Archives of Oral Biology*, 48(5), pp. 329–336. doi: 10.1016/S0003-9969(03)00014-1.
17. Dawes, C. et al. (2015) 'The functions of human saliva: A review sponsored by the World Workshop on Oral Medicine VI', *Archives of Oral Biology*, 60(6), pp. 863–874. doi: 10.1016/j.archoralbio.2015.03.004.
18. Devlin, T. M. (1997) *Biochemistry with Clinical Correlation*. Fourth. New York, Chichester, Weinheim, Brisbane, Singapore, Toronto: Wiley-Liss.
19. Garbieri, T. F. et al. (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), pp. 147–158.
20. Gomar-Vercher, S. et al. (2018) 'Stimulated and unstimulated saliva samples have significantly different bacterial profiles', *PLoS ONE*, 13(6), pp. 1–12. doi: 10.1371/journal.pone.0198021.
21. Kilian, M. and Tettelin, H. (2019) 'Identification of Virulence-Associated Properties by Comparative Genome Analysis of *Streptococcus pneumoniae*, *S. pseudopneumoniae*, *S. mitis*, Three *S. oralis* Subspecies, and *S. infantis* Mogens', *American Society for Microbiology*, 10(5), pp. 1–32.
22. Kolarevic, A. et al. (2014) 'Deoxyribonuclease inhibitors', *European Journal of Medicinal Chemistry*, 88, pp. 101–111. doi: 10.1016/j.ejmech.2014.07.040.
23. Konecny, B. (2020) 'applied sciences Salivary Extracellular DNA and DNase Activity in Periodontitis', pp. 1–10.
24. Koni, A. C. et al. (2011) 'DNA Yield and Quality of Saliva Samples and Suitability for Large-Scale Epidemiological Studies in Children', *International Journal of Obesity*, 35(s1), pp. s113–s118. doi: 10.1038/ijo.2011.43.
25. Leban, M. and Flat, P. (1871) 'The Foundations of Biochemistry', in *Biochemistry*. Western Oregon University, pp. 1–1119.
26. Lieberman, M. A. and Ricer, R. (2014) *Biochemistry, Molecular Biology and Genetics*. Sixth. Philadelphia, Baltimore, New York, London, Buenos Aires, Hongkong, Sydney, Tokyo.: Wolter Kluwer Health.
27. Lomate, P. R. and Bonning, B. C. (2016) 'Distinct properties of proteases and nucleases in the gut, salivary gland and saliva of southern green stink bug, *Nezara viridula*', *Scientific Reports*, 6(June), pp. 1–10. doi: 10.1038/srep27587.
28. Majem, B. et al. (2015) 'Non-coding RNAs in saliva: Emerging biomarkers for molecular diagnostics', *International Journal of Molecular Sciences*, 16(4), pp. 8676–8698. doi: 10.3390/ijms16048676.
29. Moraes, F. and Góes, A. (2016) 'A decade of human genome project conclusion: Scientific diffusion about our genome knowledge', *Biochemistry and Molecular Biology Education*, 44(3), pp. 215–223. doi: 10.1002/bmb.20952.
30. Nelson, D. and Cox, M. (2008) *Principles of Biochemistry*. Fifth. New York: Sara Tenney, W.H.Freeman and Company.
31. Nunes, L. A. S., Mussavira, S. and Bindhu, O. S. (2015) 'Clinical and diagnostic utility of saliva as a non-

- invasive diagnostic fluid: A systematic review', *Biochemia Medica*, 25(2), pp. 177–192. doi: 10.11613/BM.2015.018.
32. Ohkouchi, S. *et al.* (2013) 'Biogenesis and Proteolytic Processing of Lysosomal DNase II', *PLoS ONE*, 8(3). doi: 10.1371/journal.pone.0059148.
33. Pace, B. (2007) *Renaissance of Sickle Cell Disease Research in the Genome Era*. London: Imperial College Press.
34. Palazzo, A. F. and Gregory, T. R. (2014) 'The Case for Junk DNA', *PLoS Genetics*, 10(5), pp. 1–8. doi: 10.1371/journal.pgen.1004351.
35. Pallos, D. *et al.* (2015) 'Salivary markers in patients with chronic renal failure', *Archives of Oral Biology*, 60(12), pp. 1784–1788. doi: 10.1016/j.archoralbio.2015.09.008.
36. Pandeshwar, P. and Das, R. (2014) 'Role of oral fluids in DNA investigations', *Journal of Forensic and Legal Medicine*, 22, pp. 45–50. doi: 10.1016/j.jflm.2013.12.007.
37. Pandit, P., Cooper-White, J. and Punyadeera, C. (2013) 'High-yield RNA-extraction method for saliva', *Clinical Chemistry*, 59(7), pp. 1118–1122. doi: 10.1373/clinchem.2012.197863.
38. Pertiwi, K. R. (2015) 'Penerapan Teknologi DNA dalam Identifikasi Forensik', *Jurnal Ilmiah WUNY*, 16(4). doi: 10.21831/jwuny.v16i4.3518.
39. Roblegg, E., Coughran, A. and Sirjani, D. (2019) 'Saliva: An all-rounder of our body', *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 142(June), pp. 133–141. doi: 10.1016/j.ejpb.2019.06.016.
40. Rodwell, V. *et al.* (2015) *Harper's illustrated Biochemistry*. Thirtieth. New York, Chicago, San Francisco, Athens, London, Madrid, Mexico City, Milan, New Delhi, Singapore, Sydney, Toronto.: Mc Graw Hill Education.
41. Rosenberg, N. L. (1987) 'ATP as an alternative inhibitor of bacterial and endogenous nucleases and its effect on native chromatin compaction', *Molecular and Cellular Biochemistry*, 76(2), pp. 113–121. doi: 10.1007/BF00223476.
42. Samaranayake, L. and Matsubara, V. H. (2017) 'Normal Oral Flora and the Oral Ecosystem', *Dental Clinics of North America*, 61(2), pp. 199–215. doi: 10.1016/j.cden.2016.11.002.
43. Swanson, T. a, Kim, S. I. and Glucksman, M. J. (2010) *Biochemistry, Molecular Biology, and Genetics, Fifth Edition*. Available at: papers2://publication/uuid/20138893-E044-47CE-8914-DF50AA3160D4.
44. Trost, B. *et al.* (2019) 'Impact of DNA source on genetic variant detection from human whole-genome sequencing data', *Journal of Medical Genetics*, 56(12), pp. 809–817. doi: 10.1136/jmedgenet-2019-106281.
45. Vera-Sigüenza, E. *et al.* (2020) *A Multicellular Model of Primary Saliva Secretion in the Parotid Gland*, *Bulletin of Mathematical Biology*. Springer US. doi: 10.1007/s11538-020-00712-3.
46. Vila, T. *et al.* (2019) 'The power of saliva: Antimicrobial and beyond', *PLoS Pathogens*, 15(11), pp. 10–16. doi: 10.1371/journal.ppat.1008058.
47. Weissenbach, J. (2016) 'The Rise of Genomics', *Comptes Rendus - Biologies*, 339(7–8), pp. 231–239. doi: 10.1016/j.crv.2016.05.002.
48. Wilson, K. and Walker, J. (2010) *Principles and Techniques of Biochemistry and Molecular Biology*. Seventh. Cambridge, New York, Melbourne, Madrid, Cape Town, Singapore, Saõ Paulo, Delhi, Dubai, Tokyo: Cambridge University Press.
49. Xiao, J. *et al.* (2018) 'Association between Oral Candida and Bacteriome in Children with Severe ECC', *Journal of Dental Research*, 97(13), pp. 1468–1476. doi: 10.1177/0022034518790941.
50. Xu, F., Laguna, L. and Sarkar, A. (2019) 'Aging-related changes in quantity and quality of saliva: Where do we stand in our understanding?', *Journal of Texture Studies*, 50(1), pp. 27–35. doi: 10.1111/jtxs.12356.
51. Yaegaki, K. *et al.* (1982) 'Influence of Aging on DNase Activity in Human Parotid Saliva', *of 0.001 O.D. per min in the absorbance at 260 nm under J Dent Res*, 61(11), pp. 1222–1224.
52. Yao, R. A. *et al.* (2020) 'Quality of whole genome sequencing from blood versus saliva derived DNA in cardiac patients', *BMC Medical Genomics*, 13(1), pp. 1–10. doi: 10.1186/s12920-020-0664-7.
53. Youssef, N., Budd, A. and Bielawski, J. P. (2019) 'Introduction to genome biology and diversity', *Methods in Molecular Biology*, 1910, pp. 3–31. doi: 10.1007/978-1-4939-9074-0_1.
54. Zhang, C. Z. *et al.* (2016) 'Saliva in the diagnosis of diseases', *International Journal of Oral Science*, 8(3), pp. 133–137. doi: 10.1038/ijos.2016.38.
55. Zhang, L. *et al.* (2010) 'Salivary Transcriptomic Biomarkers for Detection of Resectable Pancreatic Cancer', *Gastroenterology*, 138(3), pp. 949–957.e7. doi: 10.1053/j.gastro.2009.11.010.
56. Zhang, L. *et al.* (2012) 'Development of transcriptomic biomarker signature in human saliva to detect lung

Abidah et al.- Saliva sebagai sumber DNA genom manusia

cancer', *Cellular and Molecular Life Sciences*, 69(19), pp. 3341–3350. doi: 10.1007/s00018-012-1027-0.