

DAFTAR ISI

DAFTAR ISI.....	i
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Khusus Riset	2
1.3 Manfaat Riset	2
1.4 Urgensi Riset	2
1.5 Temuan yang Ditargetkan	2
1.6 Kontribusi Riset.....	2
1.7 Luaran Riset	2
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	2
2.1 DNA Genom.....	2
2.2 Gen	3
2.2.1 COL2A1	3
2.2.2 SLITRK1	3
2.3 Preservasi DNA	3
2.4 Saliva	3
2.5 Bakteri	3
2.6 <i>Yeast</i>	4
2.7 <i>Amoeba</i>	4
2.8 Antimikroba.....	4
2.9 Deoxyribonuclease	4
2.9.1 DNase I.....	4
2.9.2 DNase II	4
2.9.3 Penghambat DNase	4
BAB 3. METODE RISET	4
3.1 Waktu dan Tempat	4
3.2 Bahan dan Alat	5
3.3 Tahapan Riset	5
3.4 Prosedur Riset.....	5
3.4.1 Pengumpulan Saliva.....	5
3.4.2 Pemberian Antimikroba dan Penghambat DNase.....	5
3.4.3 Ekstrasi DNA	5
3.4.4 Analisis PCR	5
3.4.5 Elektroforesis DNA.....	6
3.5 Indikator Capaian Setiap Tahapan	6
3.6 Teknik Pengumpulan Data	6
3.7 Analisis Data	6
3.8 Cara Penafsiran.....	6
3.9 Penyimpulan Hasil Riset	7
BAB 4. BIAYA DAN JADWAL KEGIATAN.....	7
4.1 Anggaran Biaya	7
4.2 Jadwal Kegiatan	8
DAFTAR PUSTAKA	8
LAMPIRAN.....	11
Lampiran 1. Biodata Ketua, Anggota serta Dosen Pendamping.....	11
Lampiran 2. Justifikasi Anggaran Kegiatan.....	20

Lampiran 3. Susunan Organisasi Tim Penyusun dan Pembagian Tugas	22
Lampiran 4. Surat Pernyataan Ketua Pelaksana	23

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Segmen-segmen DNA yang mengkode produk fungsional (protein) disebut sebagai gen (Lucianus, 2003; Susman, 2014). Preservasi dan identifikasi DNA penting dalam bidang forensik, biomolekuler atau keperluan diagnostik (Burrow *et al.*, 2019). Dalam studi genetika, metode yang paling sering digunakan untuk mendapatkan genom DNA adalah dari sampel darah tepi, walaupun metode ini lebih invasif sehingga lebih sulit untuk didapatkan. Saliva lebih menguntungkan dibandingkan sampel darah dimana pengambilannya tidak memerlukan tenaga yang terampil, bisa diambil dimana saja, tidak sakit, risiko penyebaran penyakit lebih rendah, bisa dibekukan sebelum ekstraksi DNA, tidak menggumpal serta bisa disimpan dalam waktu yang lama. Saliva mengandung $1,36 \times 10^5$ sel leukosit dan $4,3 \times 10^5$ sel epitel yang bisa digunakan untuk deteksi DNA (Garbieri *et al.*, 2017).

Di dalam saliva terkandung beberapa komponen seperti enzim, bakteri, hormon, immunoglobulin dan *analyte* lain. Rongga mulut adalah tempat dimana terdapat banyak bakteri, fungi, protozoa, dan virus (Deo *et al.*, 2019). Keberadaan protein dan mikroorganisme dalam saliva dapat mendegradasi DNA pada manusia (Dawes, 2015; Garbieri *et al.*, 2017). Selain itu, mikroorganisme oral di dalam saliva dapat mengkontaminasi DNA genom manusia sehingga DNA yang diekstraksi bercampur dengan DNA mikroorganisme (Samson *et al.*, 2020).

Proses transportasi sampel mulai dari tempat pengumpulan sampel hingga laboratorium dapat memakan waktu yang cukup lama. Sampel harus diupayakan agar bisa stabil hingga proses identifikasi. Sehingga diperlukan suatu metode yang tepat untuk dapat mempreservasi DNA.

Penggunaan antibiotika dapat membunuh bakteri (McCall *et al.*, 2019) sehingga dapat mengurangi risiko kontaminasi DNA pada genom manusia. Akan tetapi, salah satu hal yang harus diperhatikan adalah DNA saliva juga dapat terdegradasi oleh enzim DNase yang ada di dalam saliva (Fischer *et al.*, 2011). Oleh sebab itu diperlukan penghambat DNase untuk mencegah degradasi akibat aktivitas DNase (Kolarevic *et al.*, 2014).

Penggunaan antibiotika yang sensitif dapat membunuh bakteri pada sampel. Antibiotika golongan aminoglikosida dapat membunuh bakteri sekaligus menghambat DNase. Salah satu contohnya adalah antibiotika gentamisin yang mempunyai sensitifitas hingga 95% pada bakteri gram positif dan negatif (*Enterococcus* spp dan *Pseudomonas* spp) (Tang *et al.*, 2020). Contoh lain adalah antibiotik klindamisin yang memiliki sensitivitas sebesar 91,9% pada gram positif *bacilli* dan 79% pada bakteri gram negatif (Badr *et al.*, 2020). Pengumpulan dan preservasi sampel yang optimal diperlukan agar identifikasi DNA dapat berjalan maksimal.

1.2 Tujuan Khusus Riset

Tujuan khusus riset adalah:

1. Menentukan konsentrasi dan kemurnian DNA yang diekstraksi dari saliva dengan metode *spin column*.
2. Menentukan efek kombinasi antimikroba dan penghambat DNase untuk mempreservasi DNA genom manusia asal saliva yang disimpan dalam wadah yang tertutup pada suhu ruang selama 14 hari.
3. Mendeteksi gen COL2A1 dan SLITRK1 dari sampel saliva yang diberi kombinasi antimikroba dan penghambat DNase hingga 14 hari.

1.3 Manfaat Riset

Riset ini dapat menjadi dasar informasi ilmiah untuk mengembangkan calon produk paten berupa kit preservasi DNA manusia asal saliva.

1.4 Urgensi Riset

Pemberian antimikroba dan penghambat DNase dapat menjadi solusi untuk mengatasi kontaminasi sampel sehingga dapat menghasilkan identifikasi DNA yang lebih akurat.

1.5 Temuan yang Ditargetkan

Menemukan gen COL2A1 dan SLITRK21 pada DNA yang dipreservasi dari saliva manusia yang diberikan antimikroba dan penghambat DNase hingga 14 hari.

1.6 Kontribusi Riset

Penelitian dapat memperkaya informasi dalam bidang ilmu biomolekuler khususnya dalam pengembangan kit preservasi DNA manusia asal saliva.

1.7 Luaran Riset

Luaran yang diharapkan dari penelitian ini adalah laporan kemajuan, laporan akhir, dan publikasi artikel ilmiah pada jurnal nasional.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 DNA Genom

Genom adalah keseluruhan DNA yang ada dalam suatu sel, berisi seluruh sekuens DNA secara utuh (Nelson *et al.*, 2008). Penyusunan urutan DNA genom manusia tidak terlepas dari teknik *sequencing* dan bioinformatika. Urutan DNA genom memberi informasi tentang semua aspek biologi dari suatu organisme seperti metabolisme, fisiologi, biologi seluler, patologi termasuk penyakit menular, evolusi, dan sebagainya (Weissenbach, 2016).

2.2 Gen

Gen merupakan unit fungsional dari materi hereditas, penentu suatu sifat, penyimpan informasi, pengendali aktivitas sel, dan penyimpan memori sejati (Arsal, 2018).

2.2.1 COL2A1

Gen COL2A1 terdiri dari 54 ekson yang membentang lebih dari 31,5 kb dan mengkodekan kolagen tipe II. Kolagen tipe II merupakan komponen utama matriks ekstraseluler kartilago hialin, nukleus pulposus diskus intervertebralis, humor vitreus mata, dan struktur telinga bagian dalam (Nenna *et al.*, 2019).

2.2.2 SLITRK1

Gen SLITRK1 merupakan bagian dari SLITRK, yang merupakan protein membran integral dengan 2 domain *N-terminal leucin-rich repeat* yang mirip dengan protein SLIT. SLITRK diekspresikan terutama dalam jaringan saraf dan memiliki aktivitas modulasi neurit (Aruga *et al.*, 2003). Varian sekuens dari SLITRK 1 memiliki asosiasi dengan Sindroma *Tourette* (Abelson *et al.*, 2005).

2.3 Preservasi DNA

Preservasi ialah suatu kegiatan yang bertujuan untuk menyediakan, melindungi, mengumpulkan, dan menyimpan DNA agar tahan lama pada tempat penyimpanannya, sehingga DNA dapat tahan dan terjaga dalam waktu yang lama dan dapat digunakan sewaktu-waktu (Nejat *et al.*, 2013). Preservasi DNA, salah satunya, dapat dilakukan terhadap DNA dari sampel saliva (Sun *et al.*, 2014).

2.4 Saliva

Saliva adalah cairan tubuh yang berasal dari kelenjar ludah. Saliva digunakan sebagai cairan biologis yang dapat digunakan untuk mendeteksi suatu penyakit (Pandit *et al.*, 2013), baik penyakit menular, sistemik, degeneratif, maupun malignansi (Nunes *et al.*, 2015). Saliva mengandung enzim (Swanson *et al.*, 2012), RNA (Pandit *et al.*, 2013), DNA (Poehls *et al.*, 2018), bakteri (Lim *et al.*, 2017), fungi, protozoa (Samaranayake *et al.*, 2017), virus, immunoglobulin (Nunes *et al.*, 2015), protein, dan metabolit (Ostheim *et al.*, 2022).

2.5 Bakteri

Bakteri dalam rongga mulut manusia diperkirakan mencapai lebih dari 700 spesies, berlokasi di jaringan lunak dan keras. Konsentrasi bakteri dalam saliva sebesar 10^9 dan plak sebesar 10^{11} (Sender *et al.*, 2016). Bakteri yang hidup secara aerob dan anaerob (Reed *et al.*, 2013) umum ditemukan di rongga mulut (Lu *et al.*, 2015).

2.6 Yeast

Identifikasi fungi dari enam sampel oral menggunakan delapan metode ekstraksi yang berbeda mendapati 20 spesies fungi. Tiga terbanyak diantaranya adalah *Malassezia restricta*, *Candida dubliniensis*, dan *Candida albicans* (Rosenbaum *et al.*, 2019).

2.7 Amoeba

Salah satu mikrobiota oral adalah protozoa (Samaranayake *et al.*, 2017). *Trichomonas tenax* dan *Entamoeba gingivalis* merupakan protozoa komensal rongga mulut manusia (Fadhil *et al.*, 2020).

2.8 Antimikroba

Penggunaan antibiotik yang sesuai dapat digunakan untuk membunuh mikroorganisme dalam saliva (Rosenbaum *et al.*, 2019).

2.9 Deoxyribonuclease

Deoxyribonucleases (DNases) adalah kelas enzim yang mengkatalisis hidrolisis DNA (Kolarevic *et al.*, 2014). Konsentrasi rata-rata DNase dalam saliva parotid manusia adalah 2000 U/mg atau setara dengan 28,8 ng/mL (Yaegaki *et al.*, 1982).

2.9.1 DNase I

Kelas DNase I terdiri dari DNase 1L1, DNase 1L2, dan DNase 1L3. Kelas enzim ini diproduksi di pankreas dan kelenjar parotid saliva. DNase I berfungsi untuk mencerna nukleoprotein ekstraselular dimana perannya sangat penting untuk mencegah terjadinya penyakit autoimun (Lauková *et al.*, 2020).

2.9.2 DNase II

Famili DNase II terdiri dari DNase II α , DNase II β , dan L-DNase II. Kelas DNase ini berfungsi untuk menghidrolisis molekul DNA. DNase pada kelas ini juga disebut DNase asam karena bekerja optimal pada PH yang asam. (Lauková *et al.*, 2020).

2.9.3 Penghambat DNase

Penghambat DNase berfungsi mengendalikan atau memodifikasi aktivitas DNase. (Kolarevic *et al.*, 2014).

BAB 3. METODE RISET

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian direncanakan akan dilakukan di Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara selama 4 bulan.

3.2 Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam riset ini adalah DNA, dapar TAE 1X, *DNA extraction kit* (G1N70, Sigma), gentamisin, ketokonazol, *6X DNA loading buffer*, *PCR Master Mix* (KAPA2G, Merck), EDTA, dan 2 set *forward* dan *reverse primers* untuk gen COL2A1 dan SLITRK1.

Alat yang digunakan dalam riset ini adalah *micropipette sets*, *micropipette tip sets*, *centrifuge*, tabung Erlenmeyer, *vortex*, nanofotometer, *thermal cycler* (Veriti™, Applied Biosystems), sarung tangan, *PCR tube*, *microtube*, *Biorad electrophoresis system*, *autoclave*, pot saliva, dan *gel documentation system* (12 200468, Uvitec, France).

3.3 Tahapan Riset

Riset ini akan melalui tahapan-tahapan sebagai berikut: pengumpulan saliva, pemberian antimikroba dan penghambat DNase pada masing-masing sampel saliva, ekstraksi DNA, deteksi gen COL2A1 dan SLITRK1 dengan PCR, elektroforesis DNA, analisis data, dan pengumpulan laporan.

3.4 Prosedur Riset

3.4.1 Pengumpulan Saliva

Prosedur kerja awal berupa pengumpulan sampel saliva dari 10 subjek penelitian. Sampel saliva dibagi menjadi 5 kelompok tanpa perlakuan (TP) dan 5 kelompok perlakuan (P). Kelompok P terdiri dari kelompok H0 (segar), H3 (penyimpanan 3 hari), H7 (penyimpanan 7 hari), H10 (penyimpanan 10 hari), dan H14 (penyimpanan 14 hari).

3.4.2 Pemberian Antimikroba dan Penghambat DNase

Sebanyak 5 kelompok perlakuan (P), diberikan masing-masing kombinasi antibiotik (gentamisin), antifungi (ketokonazol), dan penghambat DNase (EDTA) dengan dosis yang akan ditentukan. Kelompok tanpa perlakuan (TP) tidak ditambahi antibiotik, antifungal, dan penghambat DNase. Volume saliva yang digunakan adalah 1 mL untuk masing-masing kelompok.

3.4.3 Ekstraksi DNA

Setelah ditambahi antibiotika, antifungal, dan penghambat DNase, sampel kelompok H0 langsung diekstraksi sedangkan kelompok H3, H7, H10, dan H14 akan disimpan dalam suhu ruang dan diekstraksi sesuai dengan lama hari penyimpanan. Hasil ekstraksi DNA dari semua kelompok akan diukur konsentrasi dan kemurniannya dengan nanofotometer.

3.4.4 Analisis PCR

Analisis PCR akan dilakukan pada gen COL2A1 dan SLITRK1.

3.4.5 Elektroforesis DNA

Selanjutnya elektroforesis *gel agarose* 1% dilakukan dan dibandingkan dengan kontrol positif (KP) dari darah dan reaksi PCR tanpa DNA (kontrol negatif, KN).

3.5 Indikator Capaian Setiap Tahapan

Tabel 3.1 Capaian Setiap Tahapan Riset

No.	Tahapan	Capaian
1	Pengumpulan Saliva	Tersedia 10 subjek
2	Pemberian Antimikroba dan Penghambat DNase	Terdapat 5 kelompok perlakuan yang diberikan masing-masing kombinasi gentamisin, antifungi dan penghambat DNase sesuai dosis yang ditentukan.
3	Ekstraksi DNA	Kuantitas dan kualitas DNA
4	Analisis PCR	Amplifikasi gen COL2A1 dan SLITRK1
5	Elektroforesis DNA	<i>Image</i> gel agarose berisi amplicon COL2A1 dan SLITRK1

3.6 Teknik Pengumpulan Data

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik.

3.7 Analisis Data

Analisis univariat dilakukan terhadap data kemurnian dan konsentrasi DNA hasil ekstraksi dari semua kelompok. Penilaian kualitas preservasi DNA genome manusia asal saliva menilai keberadaan *band* prediksi gen COL2A1 (~107 bp) dan SLITRK1 (~277 bp).

3.8 Cara Penafsiran

PCR akan mengamplifikasi gen COL2A1 dan SLITRK1 baik pada kelompok perlakuan (P), tanpa perlakuan (TP) dan kontrol positif (KP). Set primer telah didesain (Tabel 3.2).

Tabel 3.2 Set primer *COL2A1* dan *SLITRK1*

<i>Gene</i>	<i>Gene Accession #</i>	<i>Primers</i>		<i>Amplicon length</i>
COL2A1	NG_008072.1	F	GCGCAATGGAATTAGCTGGG	107 bp
		R	AAGATGCGGCGATGAGAGAG	
SLITRK1	NG_016748.1	F	CTGCTGCTGGTGTGTTGTCAC	277 bp
		R	CGGTGGGGAAGGATGTATCG	

3.9 Penyimpulan Hasil Riset

Pada penelitian ini peneliti akan menentukan kemurnian dan konsentrasi DNA hasil ekstraksi sesuai dengan data riset, dan melihat keberadaan gen COL2A1 dan SLITRK1 yang terdeteksi pada DNA saliva dengan tujuan menarik kesimpulan.

BAB 4. BIAYA DAN JADWAL KEGIATAN

4.1 Anggaran Biaya

Anggaran biaya yang diperlukan dalam penelitian ditampilkan pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Rekapitulasi Rencana Anggaran Biaya

No	Jenis Pengeluaran	Sumber Dana	Besaran Dana (Rp)
1	Bahan habis pakai	Belmawa	4.200.000,-
		Perguruan Tinggi	600.000,-
		Instansi Lain (jika ada)	-
2	Sewa dan jasa	Belmawa	1.000.000,-
		Perguruan Tinggi	200.000,-
		Instansi Lain (jika ada)	-
3	Transportasi lokal	Belmawa	1.450.000,-
		Perguruan Tinggi	150.000,-
		Instansi Lain (jika ada)	-
4	Lain-lain	Belmawa	350.000,-
		Perguruan Tinggi	50.000,-
		Instansi Lain (jika ada)	-
Jumlah			8.000.000,-
Rekap Sumber Dana		Belmawa	7.000.000,-
		Perguruan Tinggi	1.000.000,-
		Instansi Lain (jika ada)	-
		Jumlah	8.000.000,-

4.2 Jadwal Kegiatan

Rencana kegiatan yang akan dilaksanakan dapat dilihat pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Jadwal Kegiatan

No	Jenis Kegiatan	Bulan				Penanggung Jawab
		1	2	3	4	
1	Rekrutmen Subjek					Shafira
2	Uji pemberian antimikroba, antifungi, dan penghambat DNase pada sampel saliva					Annisa, Shafira, Tantri
3	Ekstraksi DNA asal saliva					Annisa, Shafira, Tantri
4	Elektroforesis DNA saliva					Annisa
5	Analisis Data					Tantri
6	Penyusunan draft artikel ilmiah					Annisa, Shafira, Tantri
7	<i>Submission</i> artikel ilmiah					Annisa

DAFTAR PUSTAKA

- Abelson, J.F., Kwan, K.Y., O'Roak, B.J., Baek, D.Y., Stillman, A.A., Morgan, T.M., Mathews, C.A., Pauls, D.L., Rasin, M.R., Gunel, M., Davis, N.R., Ercan-Sencicek, A.G., Guez, D.H., Spertus, J.A., Leckman, J.F., Dure, L.S., Kurlan, R., Singer, H.S., Gilbert, D.L., Farhi, A. dan State, M.W. 2005. Sequence variants in *SLITRK1* are associated with Tourette's syndrome. *Science (New York, N.Y.)*, 310(5746), 317–320.
- Al-Dulaimi, F.H.A., Alajeely. A.A.A., Yasir Mahmood Ail, Y.M. 2020. Incidence of *Entamoeba Gingivalis* and *Trichomonas Tenax* in Periodontitis dan Gingivitis Patients Who Attended to Private Clinics in Babylon Province. *Medico Legal Update*, 20(1), 906–910.
- Arsal dan Faridah, A. 2018. *GENETIKA I Arif Memahami Kehidupan*. Badan Penerbit Universitas Negeri Makassar. Makassar.
- Aruga, J, Yokota, N, dan Mikoshiba, K. 2003. *Human SLITRK family genes: genomic organization and expression profiling in normal brain and brain tumor tissue*. *Gene* 315: 87-94.
- Badr, M.T., Blümel, B., Baumgartner, S., Komp, J., dan Häcker, G. 2020. Antimicrobial Susceptibility Patterns and Wild-Type MIC Distributions of Anaerobic Bacteria at a German University Hospital: A Five-Year Retrospective Study (2015-2019). *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 9(11), 823.

- Burrows, A.M., Kasu, M. dan D'Amato, M.E. 2019. Preservation of DNA integrity in biological material. *Forensic Science International: Genetics SupplementSeries*, 7(1),416–418.
- Dawes, C., Pedersen, A.M., Villa, A., Ekström, J., Proctor, G.B., Vissink, A., Aframian, D., McGowan, R., Aliko, A., Narayana, N., Sia, Y.W., Joshi, R.K., Jensen, S.B., Kerr, A.R. dan Wolff, A. 2015. The functions of human saliva: A review sponsored by the World Workshop on Oral Medicine VI. *Archives of oral biology*, 60(6), 863–874.
- Deo, P.N. dan Deshmukh, R. 2019. Oral microbiome: Unveiling the fundamentals. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*, 23(1):122–128.
- Fischer, H., Scherz, J., Szabo, S., Mildner, M., Benarafa, C., Torriglia, A., Tschachler, E. dan Eckhart, L. 2011. DNase 2 is the main DNA-degrading enzyme of the stratum corneum. *PloS one*, 6(3), e17581.
- Garbieri, T.F., Brozoski, D.T., Dionísio, T.J., Santos, C.F., dan Neves, L.T. 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: revista FOB*, 25(2), 147–158.
- Kolarevic, A., Yancheva, D., Kocic, G. dan Smelcerovic, A. 2014. Deoxyribonuclease inhibitors. *European journal of medicinal chemistry*, 88, 101–111.
- Lauková, L., Konečná, B., Janovičová, L., Vlková, B. dan Celec, P. Deoxyribonucleases and their applications in biomedicine. *Biomolecules*. 2020;10(7):1–20.
- Lim, Y., Totsika, M., Morrison, M. dan Punyadeera, C. The saliva microbiome profiles are minimally affected by collection method or DNA extraction protocols. *Sci Rep*. 2017;7(1):1–10.
- Lu, S., Wang, G., Bacolla, A., Zhao, J., Spitser, S. dan Vasquez, K.M. 2015. Short Inverted Repeats Are Hotspots for Genetic Instability: Relevance to Cancer Genomes. *Cell reports*, 10(10), 1674–1680.
- Lucianus, J. 2003. Introduksi Genetika Molekular Virus. *Jurnal Kedokteran Maranatha*, 3(1):1-5.
- McCall, I.C., Shah, N., Govindan, A., Baquero, F. dan Levin, B.R. 2019. Antibiotic killing of diversely generated populations of nonreplicating bacteria. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 63(7), 1–21.
- Nejat, N. dan Vadamalai, G. 2013. Diagnostic techniques for detection of phytoplasma diseases: past and present. *J Plant Dis Prot* 120:16-25.
- Nelson, D.L., dan Cox, M. M. 2008. Lehninger principles of biochemistry. 5th ed.
- Nenna, R., Turchetti, A., Mastrogiorgio, G. dan Midulla, F. 2019. COL2A1 Gene Mutations: Mechanisms of Spondyloepiphyseal Dysplasia Congenita. *The application of clinical genetics*, 12, 235–238.
- Nunes, L.A., Mussavira, S. dan Bindhu, O.S. 2015. Clinical and diagnostic utility of saliva as a non-invasive diagnostic fluid: a systematic review. *Biochemia*

- Medica* 25(2):177–192.
- Ost Ostheim, P., Alemu, S.W., Tichý, A., Sirak, I., Davidkova, M., Stastna, M. M., Kultova, G., Schuele, S., Paunesku, T., Woloschak, G., Ghandhi, S.A., Amundson, S.A., Haimerl, M., Stroszczynski, C., Port, M. dan Abend, M. 2022. Examining potential confounding factors in gene expression analysis of human saliva and identifying potential housekeeping genes. *Scientific reports*, 12(1), 2312.
- Pandit, P., Cooper-White, J. dan Punyadeera, C. 2013. High-yield RNA-extraction method for saliva. *Clinical Chemistry*, 59(7):1118–1122.
- Poehls, U.G., Hack, C.C., Ekici, A.B., Beckmann, M.W., Fasching, P.A., Ruebner, M. dan Huebner, H. 2018. Saliva samples as a source of DNA for high throughput genotyping: an acceptable and sufficient means in improvement of risk estimation throughout mammographic diagnostics. *European journal of medical research*, 23(1), 20.
- Reed, M.S., Podesta, G. dan Fazey, I. 2013. Combining analytical frameworks to assess livelihood vulnerability to climate change and analyse adaptation options. *Ecological Economics*, 94:66-77.
- Rosenbaum, M., Hall, K.D. dan Guo, J. 2019. Glucose and Lipid Homeostasis and Inflammation in Humans Following an Isocaloric Ketogenic Diet. *Obesity*, 27(6), 971–981.
- Samaranayake, L. dan Matsubara, V.H. 2017. Normal Oral Flora and the Oral Ecosystem. *Dental Clinics of North America*, 61(2):199–215.
- Samson, C.A., Whitford, W., Snell, R.G., Jacobsen, J.C. dan Lehnert, K. (2020). Contaminating DNA in human saliva alters the detection of variants from whole genome sequencing. *Scientific reports*, 10(1), 19255.
- Sender, R., Fuchs, S. dan Milo, R. 2016. Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body. *PLoS biology*, 14(8), e1002533.
- Sun, F. dan Reichenberger, E.J. 2014. Saliva as a source of genomic DNA for genetic studies: review of current methods and applications. *Oral Health and Dental Management*, 13(2), 217–222.
- Susman, M. 2014. Genes: Definition and Structure. *ELS*.
- Swanson, T.A. 2012. *Essential Biokimia: Disertai biologi molekular dan genetika*. Binarupa Aksara. Tangerang.
- Tang, P.K., Divers, S.J. dan Sanchez, S. 2020. Antimicrobial susceptibility patterns for aerobic bacteria isolated from reptilian samples submitted to a veterinary diagnostic laboratory: 129 cases (2005-2016). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 257(3), 305–312.
- Weissenbach, J. 2016. The rise of genomics. *Comptes Rendus Biologies*, 339(7-8), 231–239.
- Yaegaki, K., Sakata, T., Ogura, R., Kameyama, T. dan Sujaku, C. 1982. Influence of aging on DNase activity in human parotid saliva. *Journal of dental research*, 61(11), 1222–1224.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Biodata Ketua, Anggota serta Dosen Pendamping

Biodata Ketua

A. Identitas Diri

1	Nama Lengkap	Annisa Aisa Ramadhani
2	Jenis Kelamin	Perempuan
3	Program Studi	Pendidikan Dokter
4	NIM	190100106
5	Tempat dan Tanggal Lahir	Binjai, 07 Desember 2001
6	Alamat E-mail	annisa.aisaaa@gmail.com
7	Nomor Telepon/HP	082283315392

B. Kegiatan Kemahasiswaan yang Sedang/Pernah Diikuti

No	Jenis Kegiatan	Status dalam Kegiatan	Waktu dan Tempat
1	Aksi Nyata PEMA	Ketua Panitia	2021 (<i>Zoom Meeting</i>)
2	Forum Diskusi Mahasiswa	Moderator Diskusi dan Sekretaris Panitia	2021 (<i>Zoom Meeting</i>)
3	KPU FK USU	Moderator Debat	2021 (<i>Zoom Meeting</i>)
4	<i>Basic Life Support</i> TBM FK USU PEMA FK USU	Ketua Panitia	2021 (<i>Zoom Meeting</i>)
5	PEMA FK USU	Anggota Divisi Kastrad	2021 (FK USU)
6	TBM FK USU	Sekretaris Divisi Humas	2021 (FK USU)
7	MMB FK USU	Wakil Koordinator Acara	2020 (<i>Zoom Meeting</i>)
8	SRF FK USU	<i>Liason Officer</i>	2019 (FK USU)
9	<i>Plan of Action</i> (PoA) LKMM-SOK Lokal FK USU	Koordinator Acara	2019 (SDN 060855 dan SDN 060891)

C. Penghargaan yang Pernah Diterima

No	Jenis Penghargaan	Pihak Pemberi Penghargaan	Tahun
1	<i>2nd Runner Up</i> "Poetry Writing" National English Competition	HMJ-BSI FBS UNIMED	2022
2	<i>Silver Medal</i> "Infectious Disease" Regional Medical Olympiad	ISMKI Wilayah I	2021
3	<i>Gold Medal</i> "Infectious Disease" PEMA Medical Olympiad	PEMA FK USU	2021
4	<i>Best Speaker</i> Hari Tanpa Tembakau Sedunia	SCORA PEMA FK USU	2021
5	<i>Best Team</i> Hari Tanpa Tembakau Sedunia	SCORA PEMA FK USU	2021
6	Juara 1 Kompetisi Esai HIV/AIDS	SCORA PEMA FK USU	2020
7	Juara 2 Poster Publik Metamorphosa	SKI FK UNS	2020
8	Peserta Perempuan Terbaik LKMM-SOK Lokal FK USU	PEMA FK USU	2019
9	"Kakak Terinspirasi" SMAN 3 Batam	SMAN 3 Batam	2019
10	Juara 4 Kompetisi Debat Bahasa Indonesia Provinsi Kepulauan Riau	Kementrian Pendidikan dan Kebudayaan Badan Pengembangan dan Pembinaan Bahasa Kantor Bahasa Kepulauan Riau	2018
11	Duta Kesehatan SMAN 3 Batam	SMAN 3 Batam	2018
12	Juara 3 Lomba Berbalas Pantun Bulan Bahasa 4	SMAN 3 Batam	2018
13	Juara 2 Lomba Pidato ROHIS Kota Batam	Kementrian Agama Kota Batam	2018
14	Juara 2 Lomba Berbalas Pantun Bulan Bahasa 3	SMAN 3 Batam	2017

Semua data yang saya isikan dan tercantum dalam biodata ini adalah benar dan dapat dipertanggungjawabkan secara hukum. Apabila di kemudian hari ternyata dijumpai ketidaksesuaian dengan kenyataan, saya sanggup menerima sanksi.

Demikian biodata ini saya buat dengan sebenarnya untuk memenuhi salah satu persyaratan dalam pengajuan PKM-RE.

Medan, 14-3-2022

Ketua Tim

A handwritten signature in black ink, consisting of stylized, cursive letters that appear to read 'Annisa Aisa Ramadhani'.

Annisa Aisa Ramadhani

Biodata Anggota**A. Identitas Diri**

1	Nama Lengkap	Tantri Thahirah Pasaribu
2	Jenis Kelamin	Perempuan
3	Program Studi	Pendidikan Dokter
4	NIM	190100059
5	Tempat dan Tanggal Lahir	Binjai, 30 September 2001
6	Alamat E-mail	tantripasaribu00@gmail.com
7	Nomor Telepon/HP	082368198030

B. Kegiatan Kemahasiswaan yang Sedang/Pernah Diikuti

No	Jenis Kegiatan	Status dalam Kegiatan	Waktu dan Tempat
1	<i>Plan of Action (PoA)</i> LKMM-SOK Lokal FK USU	Koordinator Administrasi dan Keseekretariatan	2020 Medan
2	<i>Intermedical Leadershift Camp (ILC)</i> FOSKAMI PEMA FK USU	Koordinator Administrasi dan Keseekretariatan	2020 Daring
3	<i>Grand Opening Mentoring (GOMEN)</i> FOSKAMI PEMA FK USU	Anggota Seksi Pubdok	2020 Daring
4	Kajian Kedokteran FOSKAMI (KKF) Akbar FOSKAMI PEMA FK USU	Sekretaris Panitia	2020 Daring
5	Webinar Nasional FUNASTIC SCORE PEMA FK USU (Series 1- 5)	Anggota Seksi Pubdok	2020 Daring
6	Manajemen Mahasiswa Baru (MMB) FK USU	Koordinator Administrasi dan Keseekretariatan	2020 Daring
7	PEMA <i>English Competition</i> (PESCO) PEMA FK USU	Sekretaris Panitia	2020 Daring
8	Keputrian Akbar	Anggota Administrasi	2020

	FOSKAMI PEMA FK USU	dan Kesekretariatan	Daring
9	<i>Scripta Research Festival (SRF) FK USU</i>	Anggota Seksi Pubdok	2020 Daring
10	<i>Upgrading FOSKAMI FOSKAMI PEMA FK USU</i>	Sekretaris Panitia	2021 Daring
11	<i>Scripta Research Festival (SRF) FK USU</i>	Sekretaris Panitia	2021 <i>Hybrid</i>

C. Penghargaan yang Pernah Diterima

No	Jenis Penghargaan	Pihak Pemberi Penghargaan	Tahun
1	<i>Gold Medal "Infectious Disease" PEMA Medical Olympiad (PMO)</i>	PEMA FK USU	2021
2	<i>Silver Medal "Infectious Disease" Regional Medical Olympiad (RMO)</i>	ISMKI Wilayah I	2021
3	Juara Favorit Lomba Poster Publik MMLC Wilayah I	FOSKAMI PEMA FK USU	2021

Semua data yang saya isikan dan tercantum dalam biodata ini adalah benar dan dapat dipertanggungjawabkan secara hukum. Apabila di kemudian hari ternyata dijumpai ketidaksesuaian dengan kenyataan, saya sanggup menerima sanksi.

Demikian biodata ini saya buat dengan sebenarnya untuk memenuhi salah satu persyaratan dalam pengajuan PKM-RE.

Medan, 14-03-2022

Anggota Tim



Tantri Thahirah Pasaribu

Biodata Anggota**A. Identitas Diri**

1	Nama Lengkap	T. Shafira
2	Jenis Kelamin	Perempuan
3	Program Studi	Pendidikan Dokter
4	NIM	200100203
5	Tempat dan Tanggal Lahir	Medan, 14 Desember 2002
6	Alamat E-mail	tengkushafiraa@yahoo.com
7	Nomor Telepon/HP	082167777799

B. Kegiatan Kemahasiswaan yang Sedang/Pernah Diikuti

No	Jenis Kegiatan	Status dalam Kegiatan	Waktu dan Tempat
1	PEMA FK USU	Kepala Departemen MB	2022 (FK USU)
2	SCORE PEMA FK USU	Sekretaris Manager Divisi PO3	2022 (FK USU)
3	PEMA <i>English Competition</i>	Ketua Panitia	2021 (<i>Zoom Meeting</i>)
4	SRF FK USU	Wakil Koordinator <i>Liaison Officer</i>	2022 (<i>Zoom Meeting</i> dan FK USU)
5	Aksi Nyata PEMA	Wakil Koordinator Acara	2021 (<i>Zoom Meeting</i>)

C. Penghargaan yang Pernah Diterima

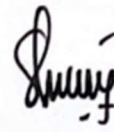
No	Jenis Penghargaan	Pihak Pemberi Penghargaan	Tahun
1	Juara 3 Poster Publik MMLC Wilayah 1	FOSKAMI PEMA FK USU	2021
2	<i>Best Young Staff 3</i>	SCORE PEMA FK USU	2021

Semua data yang saya isikan dan tercantum dalam biodata ini adalah benar dan dapat dipertanggungjawabkan secara hukum. Apabila di kemudian hari ternyata dijumpai ketidaksesuaian dengan kenyataan, saya sanggup menerima sanksi.

Demikian biodata ini saya buat dengan sebenarnya untuk memenuhi salah satu persyaratan dalam pengajuan PKM-RE.

Medan, 14-03-2022

Anggota Tim

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Shafira', with a stylized flourish at the end.

T. Shafira

Biodata Dosen Pendamping

A. Identitas Diri

1	Nama Lengkap (dengan gelar)	dr. Zulham, M.Biomed, PhD
2	Jenis Kelamin	Laki-laki
3	Program Studi	Kedokteran Umum
4	NIPD/NIDN	197407022002121002
5	Tempat dan Tanggal Lahir	Medan, 2 Juli 1974
6	Alamat Email	zulham@usu.ac.id
7	No.Telepon/HP	081266075812

B. Riwayat Pendidikan

No	Jenjang	Bidang Ilmu	Institusi	Tahun Lulus
1	Sarjana (S1)	Dokter	FK USU	1997
2	Magister (S2)	Biomedik	FK UI	2008
3	Doktor (S3)	Biokimia	Universiti Kebangsaan Malaysia	2019

C. Rekam Jejak Tri Dharma PT

Pendidikan/ Pengajaran

No	Nama Mata Kuliah	Wajib/Pilihan	SKS
1	Keterampilan Dasar Laboratorium	Wajib	2
2	Biologi Molekular	Wajib	3

Penelitian

No	Judul Penelitian	Penyanggah Dana	Tahun
1	Efek Ekstrak Daun Binahong (<i>Anredera cordifolia</i>) terhadap Penyembuhan Luka pada Tikus Hiperglikemia melalui Modulasi Ekspresi Matrix Metalloproteinase-9 di Jaringan Luka	USU	2020
2	Karakterisasi bakteri <i>Neisseria gonorrhoeae</i> resisten terhadap antimikroba menggunakan <i>real time PCR</i>	USU	2019

Pengabdian Kepada Masyarakat

No	Judul Pengabdian Kepada Masyarakat	Penyanggah Dana	Tahun
1	Sosialisasi Tentang Penyakit Menular Untuk Anggota Aisyiyah Cabang Medan Johor	Mandiri	2018
2	Sosialisasi Gaya Hidup Sehat Untuk Badan Pengurus Pusat Persatuan Istri Pegawai PT Pelabuhan Indonesia I (Persero)	PT Pelabuhan Indonesia I (Persero)	2018

Semua data yang saya isikan dan tercantum dalam biodata ini adalah benar dan dapat dipertanggungjawabkan secara hukum. Apabila di kemudian hari ternyata dijumpai ketidaksesuaian dengan kenyataan, saya sanggup menerima sanksi.

Demikian biodata ini saya buat dengan sebenarnya untuk memenuhi salah satu persyaratan dalam pengajuan PKM-RE.

Medan, 12-3-2022

Dosen Pendamping

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'Zulham', with a long horizontal stroke extending to the right.

Zulham

Lampiran 2. Justifikasi Anggaran Kegiatan

No	Jenis Pengeluaran	Volume	Harga Satuan (Rp)	Total (Rp)
1	Belanja Bahan			
	Tip mikropipet putih	300 pcs	1.500,-	450.000,-
	Tip mikropipet kuning	300 pcs	1.500,-	450.000,-
	Tip mikropipet biru	300 pcs	1.500,-	450.000,-
	Gentamisin	5 kotak	100.000,-	500.000,-
	Klindamisin	3 strip	25.000,-	75.000,-
	Ketokonazol	1 kotak	50.000,-	50.000,-
	EDTA	Sudah tersedia		
	Saliva Pot	10 pot	5.000,-	50.000,-
	Sarung tangan	100 pcs	2.500,-	25.000,-
	TAE 1X	Sudah tersedia		
	Microtube 1,5 ml	300 pcs	2.000,-	600.000,-
	PCR Tube	250 pcs	3.800,-	950.000,-
	<i>Schott Duran Bottle</i>	5 botol	100.000,-	500.000,-
	Set Primer COL2A1 dan SLITRK1	2 set	350.000,-	700.000,-
	SUB TOTAL			4.800.000,-
2	Belanja Sewa			
	Sewa <i>centrifuge</i>	4 buah	50.000,-	200.000,-
	Sewa nanofotometer	4 buah	50.000,-	200.000,-
	Sewa <i>Biorad electrophoresis system</i>	4 buah	50.000,-	200.000,-
	Sewa gel <i>documentation system</i>	4 buah	50.000,-	200.000,-
	Sewa lemari es	4 buah	50.000,-	200.000,-
	Sewa <i>autoclave</i>	2 buah	100.000,-	200.000,-
	SUB TOTAL			1.200.000,-
3	Perjalanan lokal			
	Kegiatan penyiapan bahan	1 bulan	200.000,-	200.000,-
	Kegiatan pendampingan	3 bulan	200.000,-	600.000,-
	Kegiatan penelitian di laboratorium	4 bulan	200.000,-	800.000,-
	SUB TOTAL			1.600.000,-
4	Lain-lain			
	Masker	100 pcs	2.000,-	200.000,-
	<i>Hand sanitizer</i>	4 pcs	25.000,-	100.000,-

	Paket Data	2 GB	50.000,-	100.000,-
SUB TOTAL				400.000,-
GRAND TOTAL				8.000.000,-
GRAND TOTAL (Delapan Juta Rupiah)				

Lampiran 3. Susunan Organisasi Tim Penyusun dan Pembagian Tugas

No	Nama/NIM	Program Studi	Bidang Ilmu	Alokasi Waktu (jam/minggu)	Uraian Tugas
1	Annisa Aisa Ramadhani/190100106	Pendidikan Dokter (S1)	Kedokteran	10	Pembuatan proposal, <i>logbook</i> , laporan uang, dan pengumpulan Saliva
2	Tantri Thahirah Pasaribu/1900059	Pendidikan Dokter (S1)	Kedokteran	8	Isolasi DNA, Uji Antimikroba dan Analisa Data
3	T. Shafira/200100203	Pendidikan Dokter (S1)	Kedokteran	8	Elektroforesis Gel, Uji Penghambat DNase , dan Bendahara

Lampiran 4. Surat Pernyataan Ketua Pelaksana

SURAT PERNYATAAN KETUA TIM PELAKSANA

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama Ketua Tim	:	Annisa Aisa Ramadhani
Nomor Induk Mahasiswa	:	190100106
Program Studi	:	Pendidikan Dokter
Nama Dosen Pembimbing	:	dr. Zulham, M.Biomed, PhD
Perguruan Tinggi	:	Universitas Sumatera Utara

Dengan ini menyatakan bahwa proposal PKM-RE saya dengan judul “Deteksi Gen COL2A1 dan SLITRK1 Menggunakan DNA Preservasi Asal Saliva Manusia yang Diberikan Kombinasi Antimikroba dan Penghambat DNase” yang diusulkan untuk tahun anggaran 2022 adalah asli karya kami dan belum pernah dibiayai oleh lembaga atau sumber dana lain.

Bilamana di kemudian hari ditemukan ketidaksesuaian dengan pernyataan ini, maka saya bersedia dituntut dan diproses sesuai dengan ketentuan yang berlaku dan mengembalikan seluruh biaya yang sudah diterima ke kas negara.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan sesungguhnya dan dengan sebenar-benarnya.

Medan, 14-03-2022

Yang menyatakan,



Annisa Aisa Ramadhani

190100106