

Studi pembentukan dna adduct 8-hidroksi-2'-deoksiguanosin 8-ohdg secara in vitro melalui reaksi fenton dengan benzo[a]piren = Study of the formation of 8-hydroxy-2'-deoxiguanosine 8-ohdg adducts in vitro through the Fenton reaction with benzo [a] pyrene

Chairani Adinda Putri, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20432200&lokasi=lokal>

Abstrak

ABSTRAK

Pada penelitian ini dilakukan studi pembentukan DNA adduct 8-hidroksi-2'-deoksiguanosin (8-OHdG) sebagai biomarker kerusakan DNA akibat oksidatif stress, dengan mereaksikan basa DNA 2'-deoksiguanosin 5'-monofosfat dengan senyawa-senyawa yang dapat berkontribusi menghasilkan radikal yaitu Benzo[a]Piren, hidrogen peroksida (H₂O₂) dan Fe(II). Reaksi pembentukan 8-OHdG dilakukan pada suhu 37°C dan 60°C, pH 7,4 dan pH 8,4, dengan waktu inkubasi 5 jam. Hasil adduct dianalisis menggunakan HPLC fase terbalik dengan detektor UV pada panjang gelombang 254 nm. Eluen yang digunakan adalah campuran Buffer fosfat pH 6,7 10 mM dan Metanol dengan perbandingan 85:15. Waktu retensi dGMP standar yang diperoleh yaitu 7,3 menit dan 8-OHdG pada 9,0 menit. Hasil analisis yang diperoleh menunjukkan bahwa 8-OHdG terbentuk akibat reaksi deoksiguanosin monofosfat dengan hidroksi radikal yang dihasilkan oleh benzo[a]piren. Penambahan Fe(II) meningkatkan hasil 8-OHdG yang terbentuk, sedangkan penambahan H₂O₂ meningkatkan konsentrasi 8-OHdG yang terbentuk jika pada reaksi terdapat Fe(II). Adanya reaksi fenton pada reaksi dengan b[a]p menyebabkan hasil 8-OHdG yang terbentuk lebih tinggi dibandingkan tanpa reaksi fenton. Pada suhu dan pH yang lebih tinggi didapatkan hasil 8-OHdG dengan konsentrasi yang lebih tinggi.

ABSTRACT

This research was carried out to study the formation of DNA adduct 8-OHdG as biomarkers of DNA damage due to oxidative stress, by reacting the nucleotide 2'-deoxyguanosine-5'-monophosphate with compounds that can contribute to generate radicals such as benzo[a]pyrene, hydrogen peroxide, and Iron(II). Formation of 8-OHdG was performed at 37 ° C and 60 ° C, pH 7,4 and pH 8,4 for 5 hour incubation time. The adduc tobtained from these reactions were analyzed using reversed phase HPLC with UV detector at a wavelength of 254 nm. Eluent was used in this study was a mixture of phosphate buffer pH 6,7 10 mM and methanol at ratio 85:15 The retention time of dGMP and 8-OHdG obtanied at 7,3 minute and at 9,0 minute respectively. The HPLC analysis showed that 8-OHdG was successfully formed by reaction of deoxyguanosine monophosphate with hydroxy radical generated by benzo[a]pyrene. The addition of Fe(II) increase the yield of 8-OHdG were formed, while the addition of H₂O₂ increased the concentration of 8-OHdG is formed if the reactions are contain Fe(II). Fenton reaction upon reaction with B [a] P causes the result of 8-OHdG formed higher than without the Fenton reaction. At higher temperatures and pH obtained 8-OHdG at higher concentrations.