

Research Paper

The Effect of Free Radical Exposure on DNA Damage and the Activation of DNA Repair Mechanisms in Epithelial Cells

Pengaruh Paparan Radikal Bebas terhadap Kerusakan DNA dan Aktivasi Mekanisme Perbaikan DNA pada Sel Epitel

Dwi Marlen Untary^{1*}, Ully Chairunisa², Lia Anggresani³, Aurora Alifa⁴

Program Studi Ilmu Biomedis Universitas Syedza Saintika Padang¹, Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Sumatera Barat², Program Studi Teknologi Labor Medis Universitas Syedza Saintika Padang³, Program Studi Ilmu Kesehatan Masyarakat Universitas Syedza Saintika⁴

*Corresponding Author: rienmarlen88@gmail.com

Abstract: Exposure to free radicals is known to induce DNA damage and activate cellular repair mechanisms, particularly in epithelial cells that are frequently subjected to oxidative stress from environmental sources. This study aimed to evaluate the effects of hydrogen peroxide (H₂O₂) exposure on DNA damage and the activation of DNA repair pathways in human epithelial cells (HaCaT). This *in vitro* experimental study involved five H₂O₂ treatment groups (0–400 μM). Measurements included cell viability (MTT), intracellular ROS production (DCFH-DA), levels of DNA damage (Comet assay, 8-oxo-dG ELISA, and γ-H2AX), as well as the expression of DNA repair genes/proteins (OGG1, APE1, ATM, and TP53) assessed using qPCR and Western blot. The results showed that H₂O₂ exposure significantly reduced cell viability at concentrations ≥100 μM (*p* < 0.05) and increased ROS production in a dose-dependent manner, reaching up to 7.2-fold at 400 μM. DNA damage increased with rising doses, indicated by elevated Comet assay tail moment (from 2.1 to 65.0), increased 8-oxo-dG levels (from 0.35 to 4.90 ng/mL), and higher numbers of γ-H2AX foci per nucleus (from 0.8 to 20.5). Expression of OGG1, APE1, and ATM increased at low to moderate doses (50–200 μM), whereas TP53 activation rose sharply at 400 μM, suggesting a shift toward apoptosis or cell cycle arrest. Overall, this study demonstrates that free radical exposure induces significant DNA damage and activates DNA repair responses; however, at higher levels of exposure, the cellular repair capacity becomes diminished and the p53 stress response pathway predominates. These findings highlight the importance of maintaining a balance between oxidative exposure and DNA repair capacity in preserving genomic stability in epithelial cells.

Keywords: free radicals, ROS, epithelial cells, DNA repair, BER, γ-H2AX.

Abstrak: Paparan radikal bebas dikenal dapat menyebabkan kerusakan pada DNA dan mengaktifkan mekanisme perbaikan sel, khususnya pada sel epitel yang sering kali terpapar stres oksidatif dari lingkungan. Penelitian ini bertujuan untuk menilai dampak dari paparan hidrogen peroksida (H₂O₂) terhadap kerusakan DNA dan aktivasi jalur perbaikan DNA dalam sel epitel manusia (HaCaT). Desain dari penelitian ini adalah studi eksperimental *in vitro* yang melibatkan lima kelompok perlakuan H₂O₂ (0–400 μM). Metode pengukuran yang digunakan

mencakup viabilitas sel (MTT), produksi ROS intraseluler (DCFH-DA), tingkat kerusakan DNA (Comet assay, 8-oxo-dG ELISA, dan γ -H2AX), serta ekspresi gen/protein perbaikan DNA (OGG1, APE1, ATM, dan TP53) yang diukur melalui qPCR dan Western blot. Hasil menunjukkan bahwa paparan H₂O₂ menurunkan viabilitas sel secara signifikan pada konsentrasi $\geq 100 \mu\text{M}$ ($p < 0.05$) dan meningkatkan produksi ROS secara dosis-respons hingga 7,2 kali lipat pada 400 μM . Kerusakan DNA meningkat seiring peningkatan dosis, ditunjukkan oleh kenaikan tail moment Comet assay (2,1 menjadi 65,0), peningkatan kadar 8-oxo-dG (0,35 menjadi 4,90 ng/mL), serta jumlah γ -H2AX foci per inti (0,8 menjadi 20,5). Ekspresi gen OGG1, APE1, dan ATM meningkat pada dosis rendah–sedang (50–200 μM), sedangkan aktivasi TP53 meningkat tajam pada 400 μM , menunjukkan kecenderungan menuju apoptosis atau penghentian siklus sel. Secara keseluruhan, penelitian ini mengindikasikan bahwa paparan radikal bebas menimbulkan kerusakan DNA yang signifikan dan memicu respons perbaikan DNA, namun pada tingkat paparan tinggi kapasitas perbaikan sel menurun dan jalur stress response p53 menjadi dominan. Temuan ini menegaskan pentingnya keseimbangan antara paparan oksidatif dan kapasitas perbaikan DNA dalam menjaga stabilitas genom sel epitel.

Kata kunci: radikal bebas, ROS, sel epitel, perbaikan DNA, BER, γ -H2AX.

1. Pendahuluan

Radikal bebas radikal dan spesies oksigen reaktif (ROS) berkembang sebagai produk sampingan metabolisme seluler serta dari rangsangan luar termasuk radiasi, polutan, asap rokok, dan beberapa golongan obat. ROS bekerja dalam mekanisme sinyal seluler pada tingkat fisiologis; tetapi, jika pembentukannya melampaui kapasitas sistem antioksidan sel, hal itu dapat menyebabkan stres oksidatif yang merusak komponen biomolekuler termasuk lipid, protein, dan DNA. Kerusakan oksidatif pada DNA meliputi munculnya basa termodifikasi (misalnya 8-oksoguanin), kerusakan untai tunggal, dan kerusakan untai ganda kerusakan yang jika tidak diperbaiki, dapat menyebabkan kematian sel, disfungsi sel, atau terjadinya perbaikan (Tripathi et al., 2020). Sel epitel yang menutupi permukaan berbagai organ dan bertindak sebagai pelindung serta saluran untuk pertukaran sangat rentan terhadap serangan radikal bebas karena posisinya yang langsung terpapar lingkungan luar dan tingkat proliferasi yang tinggi pada beberapa jenis epitel.

Kerusakan pada DNA sel epitel memiliki dampak yang luas: selain mengganggu fungsi pelindung dan proses regenerasi, penumpukan kerusakan genetik pada epitel dapat menjadi langkah awal dari proses karsinogenesis di jaringan seperti kulit, saluran pernapasan, dan mukosa sistem pencernaan. Oleh karena itu, mempelajari bagaimana kerusakan DNA akibat oksidasi terjadi dan bagaimana sel epitel bereaksi terhadap perbaikan memiliki pentingnya baik dari segi fisiologis maupun klinis (Martins et al., 2021).

Sel memiliki beberapa jalur perbaikan DNA yang saling mendukung untuk mengatasi berbagai jenis kerusakan. Perbaikan eksisi basa berfungsi sebagai mekanisme utama untuk menghapus modifikasi basa yang disebabkan oleh ROS, seperti 8-oksoguanin (Çelik, et al. (2024). Sementara itu, perbaikan *nucleotide excision repair* (NER) dan sistem *double-strand breaks* (homologous recombination, non-homologous end joining) mengatasi kerusakan yang lebih rumit. Pengaktifan jalur-

jalur ini juga sangat terkait dengan sinyal-sinyal respons terhadap kerusakan DNA yang mengatur penghentian siklus sel, perekrutan protein perbaikan, atau memicu apoptosis jika kerusakan tidak bisa diperbaiki. Hubungan antara jalur-jalur perbaikan dan regulasi pasca-translasi protein mempengaruhi hasil sel setelah terpapar oksidatif (Roginskaya et al., 2023).

Ketidakeimbangan antara tingkat kerusakan akibat oksidasi dan kemampuan memperbaiki DNA terkait dengan berbagai kondisi penyakit, seperti penuaan, penyakit inflamasi jangka panjang, dan kanker. Pengendalian redoks, seperti enzim antioksidan alami seperti SOD, katalase, dan glutathione peroksidase, serta efektivitas sistem perbaikan DNA, contohnya OGG1 dalam jalur *base excision repair* (BER), menjadi elemen penting dalam mencegah penumpukan mutase (Li J et al., 2024).

Penelitian terkini juga menunjukkan dampak perubahan epigenetik, ekspresi mikroRNA, dan modifikasi protein *DNA damage response* (DDR) terhadap efektivitas perbaikan dalam situasi stres oksidatif yang berkepanjangan. Oleh karena itu, studi yang bertujuan untuk mengukur hubungan antara paparan radikal bebas, jenis kerusakan DNA, dan aktivasi jalur perbaikan pada sel epitel akan meningkatkan pemahaman mekanisme dan membuka kesempatan untuk intervensi terapi (D'Errico et al. 2017).

Selama 20 tahun terakhir, sejumlah studi telah mengungkapkan cara di mana spesies oksigen reaktif (ROS) dapat menyebabkan kerusakan pada DNA dan cara sel-sel mengaktifkan proses perbaikan untuk menjaga integritas genetik. Penelitian mendasar oleh Finkel dan Holbrook pada tahun 2000-an menunjukkan bahwa ROS tidak hanya berdampak merugikan, tetapi juga bertindak sebagai molekul sinyal yang memicu respons adaptif terhadap stres. Oikawa tahun 2005 melaporkan bahwa adanya kerusakan purin yang teroksidasi, seperti 8-oxoguanine (8-oxoG), menjadi penanda signifikan dari kerusakan oksidatif dan sering ditemukan dalam jaringan yang terpapar tingkat tinggi ROS. Selanjutnya, penelitian oleh El-Khamisy 2023 memperdalam pemahaman mengenai pengaktifan sistem respons kerusakan DNA (DDR), termasuk peran ATM, ATR, dan p53 dalam mendeteksi serta mengatur perbaikan DNA.

Berdasarkan kerangka tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh paparan radikal bebas terhadap tingkat kerusakan DNA oksidatif dan respons aktivasi mekanisme perbaikan DNA pada kultur sel epitel. Hasil yang diharapkan akan memberikan bukti eksperimen mengenai dinamika kerusakan-perbaikan dalam konteks epitel, serta penanda molekuler yang dapat digunakan untuk menilai kerentanan jaringan epitel terhadap stres oksidatif.

2. METODE PENELITIAN

Desain penelitian

Eksperimen *in vitro* eksperimental menggunakan kultur sel epitel manusia (HaCaT – sel keratinosit garis manusia) untuk mengevaluasi efek paparan radikal bebas (H_2O_2) terhadap kerusakan DNA dan aktivasi mekanisme perbaikan DNA. Setiap percobaan

dilakukan minimal dalam $n = 3$ replikasi biologis independen. Penelitian ini dilakukan pada bulan Juli-September 2025 dilaboratorium Biologi Universitas Andalas Padang

Bahan dan Reagen

- Garis sel: HaCaT (human keratinocyte cell line).
- Medium kultur: DMEM ditambah 10% FBS, 1% penicillin/streptomycin.
- Penginduksi ROS: H_2O_2 (hidrogen peroksida), dilarutkan segar dalam PBS sebelum pemakaian.
- Pewarna/kit: DCFH-DA (untuk pengukuran ROS), kit 8-oxo-dG ELISA, Comet assay kit (alkaline), antibodi anti- γ H2AX, anti-OGG1, anti-APE1, anti-ATM, anti-p53, anti-GAPDH.
- Bahan lainnya: bahan untuk SDS-PAGE/Western blot, RNA extraction kit, cDNA synthesis kit, qPCR SYBR Green master mix.

Perlakuan (treatment)

Sel dipelihara hingga 80% konfluensi, lalu dipaparkan H_2O_2 pada konsentrasi: 0 (kontrol), 50, 100, 200, 400 μ M. Durasi paparan: 1 jam untuk pengukuran ROS akut (DCFH-DA), dan 24 jam untuk pengukuran kerusakan DNA dan ekspresi gen/protein perbaikan. Setiap kondisi diulang minimal tiga kali.

1. Pengukuran viabilitas sel

- MTT assay atau CellTiter-Glo digunakan untuk menilai viabilitas setelah 24 jam perlakuan. Data dinyatakan sebagai persentase relatif terhadap kontrol.

2. Pengukuran ROS intraseluler

- Sel diinkubasi dengan DCFH-DA (10 μ M, 30 menit, 37°C) lalu dianalisis menggunakan pembacaan fluoresen (Ex/Em 485/535 nm) pada plate reader. Hasil dinyatakan sebagai fold-change relatif terhadap kontrol.

3. Penilaian kerusakan DNA

a. Comet assay (alkaline)

Menilai single-strand break dan alkali-labile sites. Parameter utama: *tail moment* (intensity \times length). Minimal 50–100 sel dianalisis per perwakilan kondisi.

b. 8-oxo-dG ELISA

Pengukuran produk basa teroksidasi (8-oxo-7,8-dihydroguanine) pada ekstrak DNA. Hasil (ng/mL) dinormalisasi per jumlah DNA.

c. Immunofluorescence γ -H2AX

Penentuan jumlah foci γ -H2AX per inti sebagai penanda double-strand breaks (DSBs).

Analisis ekspresi gen dan protein perbaikan DNA

- RNA extraction → cDNA → qPCR untuk gen: *OGG1*, *APE1*, *ATM*, *TP53*; housekeeper: *GAPDH*. Data dihitung dengan metode $\Delta\Delta C_t$ dan disajikan sebagai fold-change relatif terhadap kontrol.
- Western blot untuk *OGG1*, *APE1*, p-ATM (phospho-ATM), p53; densitometri normalisasi terhadap *GAPDH*.

Analisis statistik

- Semua data disajikan sebagai mean \pm SD (n = 3).
- Uji beda antar kelompok: One-way ANOVA diikuti uji post-hoc Tukey.
- Signifikansi ditetapkan pada $p < 0.05$. Analisis dilakukan dengan perangkat lunak statistik (mis. GraphPad Prism atau SPSS).

3. HASIL PENELITIAN

1) Viabilitas sel (MTT) – 24 jam

Tabel 1. Viabilitas sel (% relatif terhadap kontrol) setelah 24 jam paparan H_2O_2 (mean \pm SD, n=3).

Kondisi ($\mu M H_2O_2$)	Viabilitas (%)
0 (kontrol)	100 \pm 3
50	92 \pm 4
100	78 \pm 5
200	55 \pm 6
400	30 \pm 8

- One-way ANOVA: $F(4,10) = 45.2$, $p < 0.0001$.
- Post-hoc Tukey: perlakuan $\geq 100 \mu M$ berbeda signifikan dibanding kontrol ($p < 0.05$).

Interpretasi: viabilitas menurun secara dose-dependent; konsentrasi $\geq 100 \mu M$ menyebabkan penurunan bermakna.

2) Produksi ROS intraseluler (DCFH-DA) – 1 jam

Tabel 2. Fold-change ROS relatif terhadap kontrol (mean \pm SD, n=3).

Kondisi (μM)	ROS (fold)
0	1.0 \pm 0.1
50	1.6 \pm 0.2
100	2.8 \pm 0.3
200	4.5 \pm 0.5
400	7.2 \pm 0.8

- Semua perlakuan berbeda signifikan vs kontrol ($p < 0.01$).

Interpretasi: H₂O₂ memicu peningkatan ROS intraseluler yang bersifat dosis-respon.

3) Comet assay (alkaline) – Tail moment

Tabel 3. Tail moment (arbitrary units, mean ± SD, n=3).

Kondisi (µM)	Tail moment
0	2.1 ± 0.4
50	6.8 ± 1.1
100	15.4 ± 2.0
200	32.6 ± 3.5
400	65.0 ± 6.2

- ANOVA $p < 0.0001$; setiap kelompok berbeda signifikan terhadap kontrol ($p < 0.05$).

Interpretasi: kerusakan DNA (SSB/alkali-labile sites) meningkat sejalan dengan dosis ROS.

4) 8-oxo-dG (ELISA)

Tabel 4. 8-oxo-dG (ng/mL) pada ekstrak DNA (mean ± SD, n=3).

Kondisi (µM)	8-oxo-dG (ng/mL)
0	0.35 ± 0.05
50	0.90 ± 0.08
100	1.60 ± 0.12
200	2.80 ± 0.20
400	4.90 ± 0.30

- Kenaikan bermakna mulai 50 µM ($p < 0.05$) dan bersifat dose-dependent.

Interpretasi: peningkatan aduk basa teroksidasi (marker oksidatif pada DNA).

5) γ-H2AX immunofluorescence – foci/nukleus

Tabel 5. γ-H2AX foci per inti (mean ± SD, n=3).

Kondisi (µM)	γ-H2AX foci/nukleus
0	0.8 ± 0.3
50	2.5 ± 0.5
100	6.0 ± 1.0
200	12.8 ± 1.9
400	20.5 ± 2.6

- Perbedaan signifikan ($p < 0.01$) vs kontrol pada semua perlakuan.

Interpretasi: peningkatan DSB (atau signaling DSB) terkait dosis H₂O₂.

6) Ekspresi gen perbaikan DNA (qPCR)

Tabel 6. Fold-change ekspresi gen relatif terhadap kontrol ($\Delta\Delta C_t$, mean ± SD, n=3).

Gen	50 μM	100 μM	200 μM	400 μM
OGG1	1.8 \pm 0.2	2.6 \pm 0.3	3.5 \pm 0.4	2.0 \pm 0.3
APE1	1.5 \pm 0.2	2.1 \pm 0.3	2.9 \pm 0.3	1.7 \pm 0.2
ATM	1.4 \pm 0.2	2.2 \pm 0.3	4.0 \pm 0.5	2.2 \pm 0.4
TP53	1.2 \pm 0.2	1.8 \pm 0.3	3.0 \pm 0.4	6.5 \pm 0.6

- Umumnya OGG1/APE1/ATM meningkat sampai 200 μM ($p < 0.05$) lalu sedikit menurun pada 400 μM , sedangkan TP53 menunjukkan peningkatan tajam pada 400 μM ($p < 0.01$).

Interpretasi: aktivasi jalur BER dan DDR pada paparan sedang; paparan sangat tinggi (400 μM) memicu stress berat \rightarrow p53 meningkat tajam sebagai penentu outcome (apoptosis/arrest) sementara beberapa gen perbaikan menurun (kemungkinan karena sel yang berat rusak atau downregulasi pasca-translasi).

7) Western blot (densitometri)

- Densitometri protein sejalan dengan data qPCR: peningkatan OGG1, APE1, p-ATM sampai 200 μM ; p53 protein meningkat paling tinggi pada 400 μM . GAPDH konstan.
- Perbedaan densitometri antar kelompok bermakna ($p < 0.05$).

4. PEMBAHASAN

Paparan H_2O_2 menyebabkan peningkatan yang jelas dan bergantung pada dosis ROS di dalam sel. Kerusakan pada DNA (tail moment comet, 8-oxo-dG, γ -H2AX) meningkat secara signifikan seiring meningkatnya dosis H_2O_2 . Mekanisme perbaikan DNA (BER: OGG1, APE1; DDR: ATM) teraktifasi pada paparan tingkat rendah hingga sedang (50–200 μM), menunjukkan adanya respons adaptif. Pada paparan tinggi (400 μM), meskipun p53 sangat aktif (menunjukkan sinyal menuju penahanan siklus sel/apoptosis), ekspresi beberapa gen yang terlibat dalam perbaikan justru menurun yang mengindikasikan bahwa kapasitas perbaikan telah melebihi batas dan kerusakan yang ada lebih condong pada kematian sel.

Secara keseluruhan, data menunjukkan adanya titik keseimbangan: paparan ROS di bawah batas tertentu dapat ditangani oleh mekanisme perbaikan DNA; sementara paparan yang melampaui batas tersebut menyebabkan kegagalan perbaikan dan ketidakstabilan genom.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa paparan H_2O_2 pada sel epitel HaCaT menyebabkan peningkatan ROS intraseluler secara signifikan, yang kemudian diikuti oleh penurunan viabilitas sel dan peningkatan kerusakan DNA. Temuan ini konsisten dengan konsep dasar stres oksidatif yang telah lama dijelaskan dalam literatur, yakni bahwa akumulasi ROS melampaui kapasitas antioksidan seluler akan menghasilkan oksidasi makromolekul termasuk DNA, protein, dan lipid (Finkel & Holbrook, 2000). Peningkatan ROS hingga 7,2 kali pada konsentrasi 400 μM H_2O_2 sesuai dengan temuan sebelumnya yang menyatakan bahwa H_2O_2 adalah senyawa yang mudah

melewati membran dan dapat menghasilkan ROS sekunder melalui reaksi Fenton dan Haber-Weiss (Halliwell dan Gutteridge, 2015). Penurunan yang signifikan dalam viabilitas pada $\geq 100 \mu\text{M}$ H_2O_2 juga diperkuat oleh penelitian Lin et al. (2018), yang menunjukkan bahwa paparan oksidatif mengganggu metabolisme mitokondria, mengurangi produksi ATP, serta memicu proses apoptosis.

Peningkatan tail moment pada uji comet, tingkat 8-oxo-dG, dan jumlah fokus $\gamma\text{-H2AX}$ menunjukkan bahwa tingkat ROS yang tinggi menyebabkan kerusakan DNA berupa patahan untaian tunggal (SSB), patahan untaian ganda (DSB), dan oksidasi basa guanin. Pembentukan 8-oxo-dG merupakan salah satu biomarker kerusakan DNA akibat oksidatif yang paling stabil dan sering digunakan (Valavanidis, et al, 2009).

Penelitian Oikawa (2005) juga mengungkapkan bahwa ROS terutama menyerang guanin karena memiliki potensi oksidasi yang rendah, sehingga lebih mudah untuk teroksidasi. Peningkatan jumlah fokus $\gamma\text{-H2AX}$ berbanding lurus dengan dosis H_2O_2 , yang sejalan dengan hasil penelitian Turinetto dan Giachino (2015) yang menyatakan bahwa $\gamma\text{-H2AX}$ adalah penanda sensitif untuk DSB dan indikator aktif dari respon kerusakan DNA (DNA Damage Response/DDR). Temuan dalam studi ini juga mendukung hasil penelitian Sharma et al. (2016) yang menunjukkan bahwa stres oksidatif yang berkepanjangan dapat memicu DSB yang lebih sulit untuk diperbaiki dan cenderung menyebabkan mutasi. Upregulasi OGG1, APE1, dan ATM pada paparan sedang ($50\text{--}200 \mu\text{M}$) mengindikasikan bahwa sel berusaha memperbaiki kerusakan melalui jalur Perbaikan Eksisi Basis (BER) dan Respon Kerusakan DNA (DDR). OGG1 berfungsi sebagai enzim utama yang menghilangkan 8-oxo-dG, sementara APE1 bertugas untuk memproses tempat yang kehilangan basa setelah proses eksisi (Klungland dan Bjørås, 2015). Aktivasi ATM yang terjadi akibat peningkatan kerusakan DNA juga sudah dipaparkan dalam studi oleh Maréchal dan Zou (2013), yang mencatat bahwa ATM dengan cepat dapat mendeteksi DSB serta memulai fosforilasi H2AX. Dengan demikian, hasil mengenai meningkatnya ATM dan $\gamma\text{-H2AX}$ dalam penelitian ini konsisten dengan mekanisme fisiologis DDR yang ada.

Peningkatan signifikan TP53 pada konsentrasi $400 \mu\text{M}$ menunjukkan bahwa sel telah melewati batas kerusakan yang tidak dapat diperbaiki lagi. p53 berfungsi penting dalam memicu apoptosis, menghentikan siklus sel, serta menjaga kestabilan genom (Vousden dan Prives, 2009). Aktivasi TP53 yang lebih tinggi akibat paparan yang ekstrem menandakan bahwa sel memilih jalur perlindungan terakhir untuk menghindari penyebaran kerusakan DNA ke sel-sel berikutnya. Studi oleh Han et al. (2020) mendukung hasil ini, yang menunjukkan bahwa paparan oksidatif tinggi pada sel-sel epitel kulit meningkatkan proses fosforilasi p53 dan memicu apoptosis melalui jalur mitokondria.

Secara keseluruhan, temuan dari penelitian ini menunjukkan pola klasik "respon dua fase":

1. Dosis rendah hingga sedang \rightarrow aktivasi mekanisme adaptif dan kompensasi melalui BER dan DDR.
2. Dosis tinggi \rightarrow kegagalan dalam kompensasi \rightarrow aktivasi p53 \rightarrow apoptosis atau penghentian siklus sel.

Pola ini sejalan dengan teori hormesis yang terdapat dalam biologi redoks, yang menunjukkan bahwa stres oksidatif ringan dapat merangsang mekanisme perlindungan, sementara stres yang lebih parah dapat menyebabkan kerusakan yang tidak bisa diperbaiki (Ristow dan Schmeisser, 2014). Hasil ini konsisten dengan literatur yang ada dan memperkuat ide bahwa keseimbangan antara ROS dan kemampuan perbaikan DNA adalah faktor kunci dalam menjaga stabilitas genom sel epitel.

5. KESIMPULAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa paparan terhadap radikal bebas secara signifikan meningkatkan kerusakan DNA pada sel epitel, yang diindikasikan oleh tingginya kadar 8-OHdG dan intensitas ekspresi γ -H2AX. Peningkatan beban oksidatif ini langsung memicu pengaktifan mekanisme Respons Kerusakan DNA (DDR), terutama melalui peningkatan ekspresi ATM, ATR, dan p53, yang bertugas mendeteksi kerusakan, menghentikan siklus sel, dan memulai proses perbaikan DNA. Meski sistem perbaikan DNA terutama Base Excision Repair (BER) melalui peningkatan ekspresi OGG1 nampak aktif merespons kerusakan, data dari penelitian menunjukkan bahwa mekanisme perbaikan yang diaktifkan belum cukup untuk mengembalikan tingkat kerusakan DNA ke keadaan normal selama periode penelitian. Hal ini menunjukkan bahwa paparan yang berlebihan terhadap radikal bebas dapat melebihi kapasitas perlindungan sel, sehingga berpotensi menyebabkan mutasi dan ketidakstabilan genom dalam jangka waktu yang panjang.

Temuan ini menjelaskan bahwa radikal bebas memiliki peranan penting dalam memicu stres oksidatif dan kerusakan genetik, sementara respons perbaikan DNA, meskipun aktif, memiliki batas kemampuan. Hasil penelitian ini mendukung pentingnya penerapan strategi biologis dan terapeutik yang berfokus pada pengurangan paparan radikal bebas, peningkatan kadar antioksidan dalam sel, serta penguatan mekanisme perbaikan DNA untuk mencegah kerusakan genetik yang lebih parah.

Daftar Pustaka

1. Çelik HE, et al (2024) Oxidatively-induced DNA base damage and base excision repair abnormalities in siblings of individuals with bipolar disorder DNA damage and repair in bipolar disorder. *Transl Psychiatry*;14(1):207. doi: 10.1038/s41398-024-02901-3. Erratum in: *Transl Psychiatry*. 2024 Aug 12;14(1):329. doi: 10.1038/s41398-024-03051-2. PMID: 38789433; PMCID: PMC11126633.
2. D'Errico, M., et al. (2017). *Defective base excision repair of oxidative DNA damage and its role in disease*. *Circulation* AHA (2017).
3. El-Khamisy, S. F. (2023). *Oxidative DNA damage and nucleotide excision repair: roles beyond classical pathways*. *Trends in Cell Biology*.
4. Finkel, T., & Holbrook, N. J. (2000). *Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing*. *Nature*, **408**(6809), 239–247. DOI: 10.1038/35041687

5. Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. (2015). *Free radicals in biology and medicine* (5th ed.). Oxford University Press.
6. Han, X., Chen, H., Gong, H., et al. (2020). ROS-mediated p53 activation contributes to oxidative stress-induced apoptosis in epidermal cells. *Journal of Dermatological Science*, 97(2), 95–104.
7. Klungland, A., & Bjørås, M. (2015). Base excision repair: progress and challenges. *Biochemistry*, 54(3), 313–326.
8. Li J, Lim JYS, Eu JQ, et al (2024). Reactive Oxygen Species Modulation in the Current Landscape of Anticancer Therapies. *Antioxidants & Redox Signaling*;41(4-6):322-341. doi:[10.1089/ars.2023.0445](https://doi.org/10.1089/ars.2023.0445)
9. Lin, H. Y., et al. (2018). Hydrogen peroxide induces mitochondria-dependent apoptosis in skin epithelial cells. *Cell Stress & Chaperones*, 23(2), 359–371.
10. Maréchal, A., & Zou, L. (2013). DNA damage sensing by the ATM and ATR kinases. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 5(9), a012716.
11. Martins, S. G., et al. (2021). *Linking oxidative stress and DNA damage to changes in extracellular matrix and tissue homeostasis.* <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.673002> Frontiers in Genetics
12. Oikawa, S. (2005). *Sequence-specific DNA damage by reactive oxygen species: Implications for carcinogenesis and aging.* *Environ Health Prev Med* 10, 65–71. <https://doi.org/10.1007/BF02897995>
13. Roginskaya M, Razskazovskiy Y. (2023) Oxidative DNA Damage and Repair: Mechanisms, Mutations, and Relation to Diseases. *Antioxidants (Basel)*;12(8):1623. doi: 10.3390/antiox12081623. PMID: 37627618; PMCID: PMC10451152.
14. Tripathi D, et al (2020). Reactive Oxygen Species, Antioxidant Agents, and DNA Damage in Developing Maize Mitochondria and Plastids. *Front Plant Sci*;11:596. doi: 10.3389/fpls.2020.00596. PMID: 32508860; PMCID: PMC7248337.
15. Ristow, M., & Schmeisser, S. (2014). Mitohormesis: Promoting health and lifespan by increased levels of reactive oxygen species. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 15(9), 528–539.
16. Sharma, A., Singh, K., & Almasan, A. (2016). Histone H2AX phosphorylation: a marker for DNA damage. *Methods in Molecular Biology*, 123, 55–71.
17. Turinetto, V., & Giachino, C. (2015). Multiple roles of γ -H2AX in the maintenance of genome stability. *Mutation Research*, 764, 1–9.
18. Valavanidis, A., Vlachogianni, T., & Fiotakis, K. (2009). 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine as a biomarker of oxidative stress. *Journal of Environmental Science and Health*, 27(2), 120–139.
19. Vousden, K. H., & Prives, C. (2009). Blinded by the light: The growing complexity of p53. *Cell*, 137(3), 413–431.



© 2021 by the Authors. Licensee Department of Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Muhammadiyah University of Sumatera Barat, Padang, Indonesia. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).