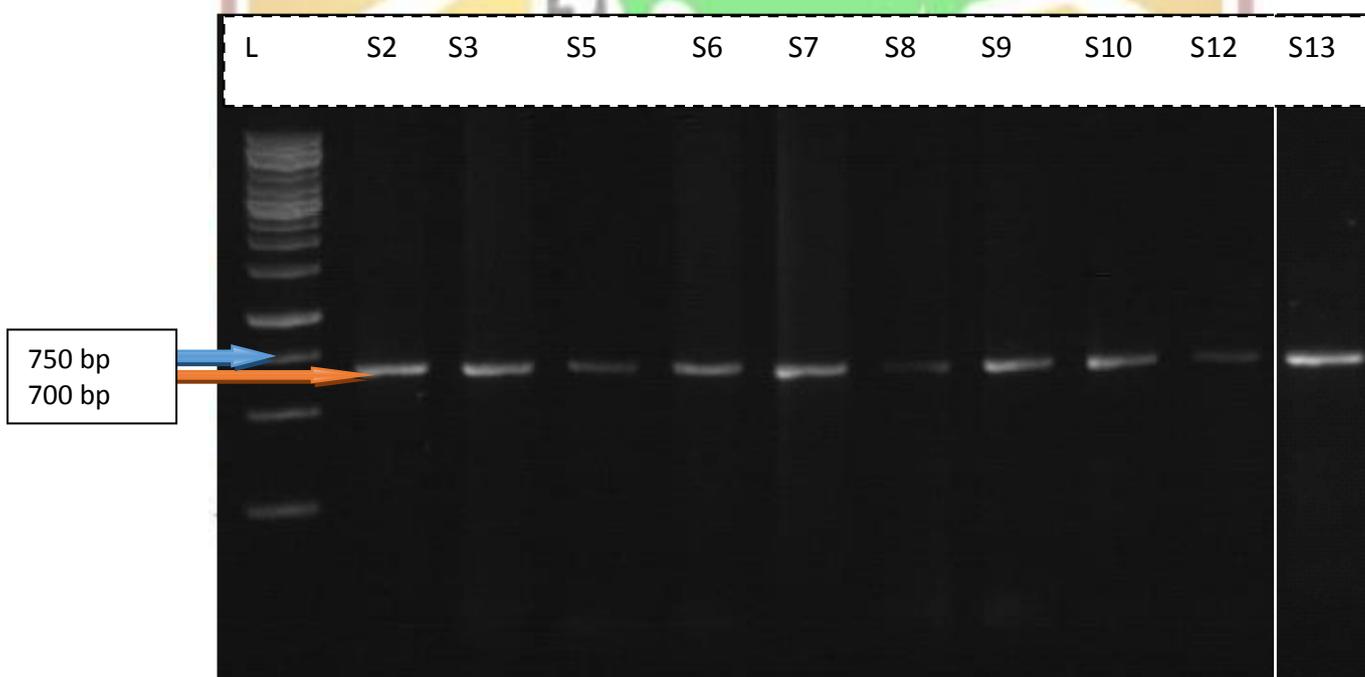


## V. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 5.1. Hasil

#### 5.1.1. Deteksi Gen Target E6 HPV 18

Penelitian ini dilakukan dalam rangka mengidentifikasi variasi molekuler (polimorfisme) gen E6 HPV 18 yang meliputi variasi urutan basa nukleotida, variasi asam amino dan hubungan kekerabatannya dalam bentuk pohon filogeni. Dari total 45 sampel isolat yang terdeteksi DNA HPV dengan *consensus primers* GP5+/6+ dan MY09/11, hanya 15 sampel yang merupakan HPV tipe 18. *Running* PCR dengan primer spesifik gen E6 terhadap ke-15 isolat tersebut, hanya 10 isolat terdeteksi gen E6 yang ditunjukkan dengan adanya pita pada posisi 700 bp.

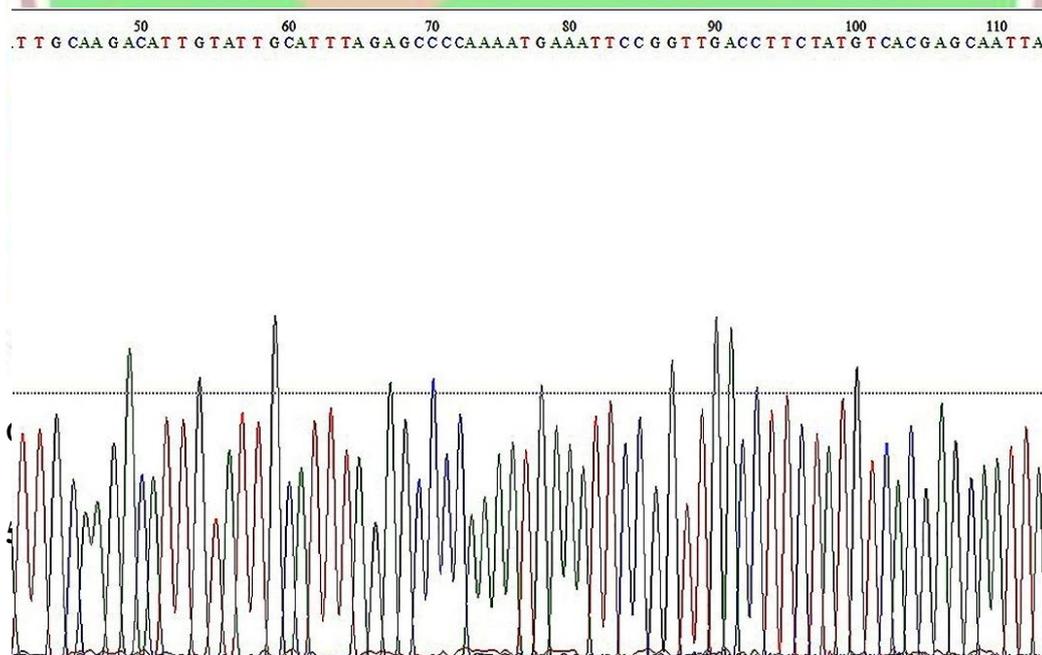


Gambar 10 : Foto Hasil Amplifikasi Isolat Sampel Gen E6 HPV 18

Keterangan gambar 10 :

L	= Ladder	S	= Sampel
Kondisi <i>agarose gel</i>			: 0,8 %,
Jumlah tangga DNA dimuat per <i>lane</i>			: 0.2 ug,
Volume Sampel dimuat per <i>lane</i>			: 1uL
1kb <i>ladder</i> (bp)			: 250, 500, 750, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000, 5000, 6000, 8000, 10000

Ada beberapa hal yang dapat menjadi penyebab mengapa 5 isolat sampel tidak terdeteksi keberadaan gen E6 dengan primer spesifik, yaitu kemungkinannya adalah rusaknya gen target, terjadi kontaminasi oleh polisakarida atau ikut terisolasinya metabolit sekunder (Fatchiyah *et al*, 2011). Hasil sekuensing isolat sampel yang dikirimkan oleh 1<sup>st</sup> Base Singapore berupa urutan pasangan basa nukleotida *forward* dan *reverse* dalam bentuk format ABI. Salah satu contohnya dapat dilihat pada gambar 11.



Gambar 11 : Contoh Hasil Sekuensing Isolat Sampel Dalam Bentuk format ABI

Data urutan pasangan basa isolat sampel yang diperoleh dari hasil sekuensing kemudian dibandingkan dengan sekuen referens gen E6 HPV 18 yang ada pada *Genebank* (NC001357) menggunakan *online program* BLAST dari NCBI. Melalui program ini dapat diketahui persentase homologi dan variasi molekuler pada isolat sampel berupa SNPs (*Single Nucleotide Polymorphism*) seperti insersi, delesi, maupun substitusi (transisi atau transversasi).

Penilaian homologi isolat sampel terhadap sekuen referens dapat kita ketahui dari nilai identitasnya (*identities*), dimana nilai 100% ditandai dengan tidak adanya garis penghubung antara sekuen isolat sampel (*Query*) dengan sekuen referens (*Sbjct*) yang hilang di sepanjang 293 bp sekuen yang diperiksa. Hal ini menandakan sekuen isolat sampel sama persis dengan isolat referens (lihat S8 pada gambar 12 dengan homolog 100%). Apabila terdapat garis penghubung yang hilang menandakan adanya mutasi yang terjadi (lihat S2 pada gambar 13 dengan homolog 99%).

Ambil sebagai contoh adalah isolat S2. Angka homolog 99% pada isolat S2 diperoleh dengan membandingkan jumlah *query* dan *sbjt* yang saling terhubung terhadap keseluruhan *query* dan *sbjt* yang diperiksa dari isolat sampel dan sekuens referens. Pada kasus isolat S2 terdapat 291 garis penghubung *query* dan *sbjt*, sedangkan total keseluruhannya adalah 293 garis. Bila 291 dibagi dengan 293 maka akan didapatlah angka 99%. Cara yang sama berlaku untuk isolat sampel lainnya. Dari perubahan sekuen nukleotida tersebut dapat juga dilihat jenis mutasi yang terjadi seperti substitusi, insersi dan delesi. Salah satu contoh penggunaan program BLAST ini dapat dilihat pada gambar berikut ini.

```

Query 1  ATGCTGCATGCCATAAATGTATAGATTTTTATTCTAGAATTAGAGAATTAAGACATTATT 60
          |||
Sbjct 1  ATGCTGCATGCCATAAATGTATAGATTTTTATTCTAGAATTAGAGAATTAAGACATTATT 60

Query 61  CAGACTCTGTGTATGGAGACACATTGGAAAACTAACTAACACTGGGTTATACAATTTAT 120
          |||
Sbjct 61  CAGACTCTGTGTATGGAGACACATTGGAAAACTAACTAACACTGGGTTATACAATTTAT 120

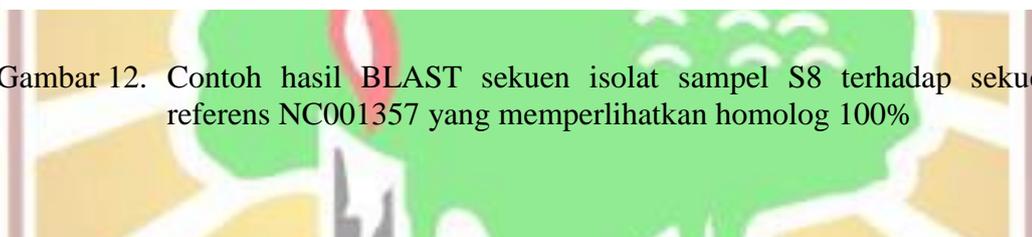
Query 121 TAATAAGGTGCCTGCGGTGCCAGAAACCGTTGAATCCAGCAGAAAACTTAGACACCTTA 180
          |||
Sbjct 121 TAATAAGGTGCCTGCGGTGCCAGAAACCGTTGAATCCAGCAGAAAACTTAGACACCTTA 180

Query 181 ATGAAAAACGACGATTTCCACAACATAGCTGGGCACTATAGAGGCCAGTGCCATTCGTGCT 240
          |||
Sbjct 181 ATGAAAAACGACGATTTCCACAACATAGCTGGGCACTATAGAGGCCAGTGCCATTCGTGCT 240

Query 241 GCAACCGAGCAGCAGGAACGACTCCAACGACGCAGAGAAACACAAGTATAA 293
          |||
Sbjct 241 GCAACCGAGCAGCAGGAACGACTCCAACGACGCAGAGAAACACAAGTATAA 293

```

Gambar 12. Contoh hasil BLAST sekuen isolat sampel S8 terhadap sekuen referens NC001357 yang memperlihatkan homolog 100%



```

Query 1  ATGCTGCATGCCATAAATGTATAGATTTTTATTCTAGAATTAGAGAATTAAGACATTATT 60
          |||
Sbjct 1  ATGCTGCATGCCATAAATGTATAGATTTTTATTCTAGAATTAGAGAATTAAGACATTATT 60

Query 61  CAGACTCTGTGTATGGAGACACATTGGAAAACTAACTAACACTGGGTTATACAATTTAT 120
          |||
Sbjct 61  CAGACTCTGTGTATGGAGACACATTGGAAAACTAACTAACACTGGGTTATACAATTTAT 120

Query 121 TAATAAGGTGCCTGCGGTGCCAGAAACCGTTGAATCCAGCAGAAAACTTAGACACCTTA 180
          |||
Sbjct 121 TAATAAGGTGCCTGCGGTGCCAGAAACCGTTGAATCCAGCAGAAAACTTAGACACCTTA 180

Query 181 ATGAAAAACGACGATTTCCACAACATAGCTGGGCACTATAGAGGCCAGTGCCATTCGTGCT 240
          |||
          >>>
Sbjct 181 ATGAAAAACGACGATTTCCACAACATAGCTGGGCACTATAGAGGCCAGTGCCATTCGTGCT 240

Query 241 GCAACCGAGCAGCAGGAACGACTCCAACGACGCAGAGAAACACAAGTATAA 293
          |||
          >>>
Sbjct 241 GCAACCGAGCAGCAGGAACGACTCCAACGACGCAGAGAAACACAAGTATAA 293

```

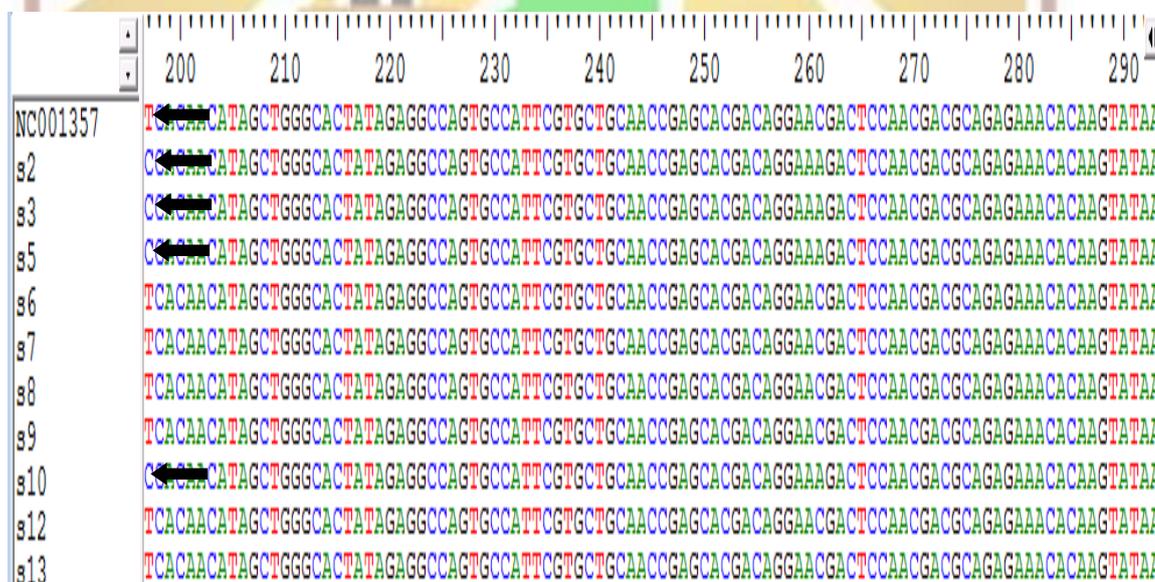
Gambar 13. Contoh hasil BLAST sekuen isolat sampel S2 terhadap sekuen referens NC001357 yang memperlihatkan adanya SNPs (tanda panah berwarna merah) dan homolog 99%

No	KODE SAMPEL	% Homologi	Klasifikasi	Jumlah SNPs		
				Insersi	Delesi	Substitusi
Ref	NC001356	<i>Reference sequence</i>		Insersi	Delesi	Substitusi
1	S2	99	Varian	-	-	2
2	S3	99	Varian	-	-	2
3	S5	99	Varian	-	-	2
4	S6	100	Varian	-	-	-
5	S7	100	Varian	-	-	-
6	S8	100	Varian	-	-	-
7	S9	100	Varian	-	-	-
8	S10	99	Varian	-	-	2
9	S12	100	Varian	-	-	-
10	S13	100	Varian	-	-	-
11	KC470211	99	Varian	-	-	-
12	KC470210	99	Varian	-	-	-
13	KP965188	99	Varian	-	-	1
14	KP965187	99	Varian	-	-	1
15	KC470208	100	Varian	-	-	-
16	AY262282	100	Varian	-	-	1
17	KC470209	100	Varian	-	-	-
18	KC456640	99	Varian	-	-	-
19	KC470228	98	Varian	-	-	3
20	KC470227	98	Varian	-	-	3
21	KP965190	98	Varian	-	-	3
22	KP965191	98	Varian	-	-	3
23	KC470215	98	Varian	-	-	4
24	KP965192	98	Varian	-	-	4
25	KP965193	98	Varian	-	-	4
26	KP965189	98	Varian	-	-	5
27	JN416252	98	Varian	-	-	4

28	KC470230	98	Varian	-	-	3
29	KR732978	98	Varian	-	-	3
30	KC470229	98	Varian	-	-	3

Tabel 4 : Perbandingan homolog dan SNPs yang terjadi pada sekuen isolat sampel dan beberapa isolat lainnya dari *genebank* terhadap isolat referens NC001357

Analisa lanjutan terhadap variasi molekuler isolat sampel adalah dengan menggunakan Program BIOEDIT® versi 7.2.5 untuk melihat jenis mutasi yang terjadi, jenis asam amino yang dihasilkan dan posisi nukleotida yang mengalami mutasi pada isolat sampel. Pada program ini tergambar secara rinci sekuen nukleotida isolat referensi dan isolat sampel di sepanjang 293 bp yang akan dianalisa. Dapat dilihat pada posisi sekuen nukleotida ke berapa terjadinya mutasi dan juga pada posisi ke berapa terjadinya perubahan asam amino yang dihasilkan.



Gambar 14 : Contoh perubahan nukleotida yang terjadi. Pada posisi nukleotida 197 terjadi perubahan dimana isolat referens NC001357 menunjukkan nukleotida T sedangkan S2, S3, S5 dan S10 menunjukkan nukleotida C. Program yang digunakan adalah BIOEDIT® versi 7.2.5.



S7										
S8										
S9										
S12										
S13										
KC470211					*				*	
KC470210					*				*	
KP965188		*			*				*	
KP965187					*				*	
KC456640										*
AY262282										
KC470209										
KC470208										
KC470228				*	*	*		N87R	*	
KC470227				*	*	*		N87R	*	
KP965190				*	*	*		N87R	*	
KP965191				*	*	*		N87R	*	
KC470215	*			*	*	*		N87R		
KP965192	*			*	*	*		N87R		
KP965193	*			*	*	*		N87R		
KP965189	*	*	*	*	*	*		N87R		
JN416252	*	*	*	*	*	*		N87R		
KC470230				*	*	*		N87R		
KR732978				*	*	*		N87R		
KC470229				*	*	*		N87R		

Keterangan tabel 5. Jenis mutasi isolat HPV18 terhadap isolat referensi NC00135 (Warna merah pada isolat referens menunjukkan varian Eropa, warna biru adalah varian Asian-American dan warna hijau untuk varian African. Tanda \* menunjukkan terjadi perubahan nukleotida, tanda # menunjukkan stop kodon)

Kode asam amino :

F = Fenil alanin

H = Histidin

S = Serin

T = Treonin

E = Asam Glutamat

K = Lisin

G = Glisin

N = Asparagin

I = Isoleusin

D = Asam aspartat

W = Triptofan

A = Alanin

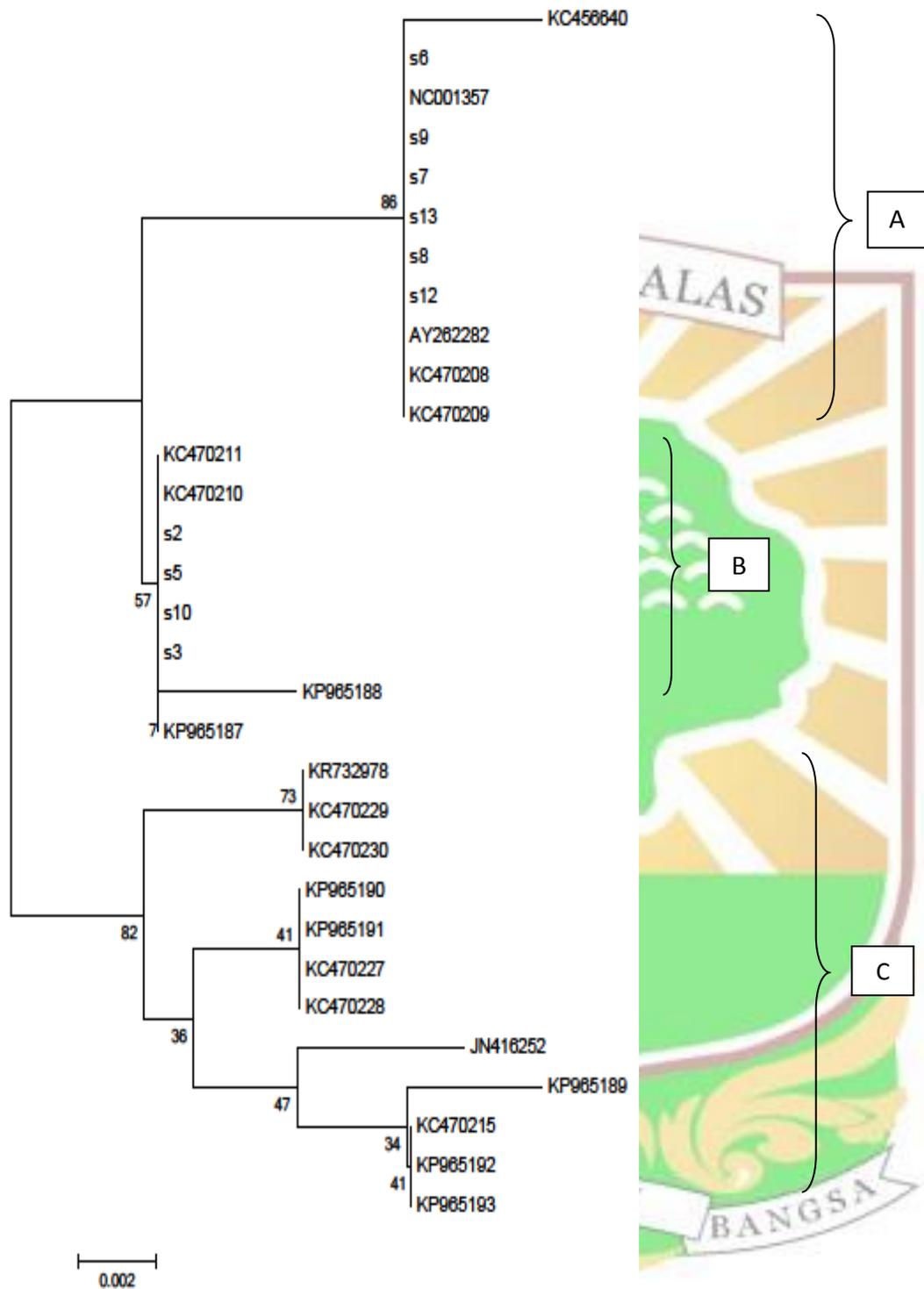
R = Arginin

Y = Tirosin

Pada tabel 5 dapat dilihat bahwa dari sepuluh isolat yang digunakan dalam penelitian ini terdapat 8 *missense mutation* dengan rincian 4 mutasi adalah perubahan dari T197C dan 4 sisanya merupakan perubahan C261A. Kesemua mutasi terjadi pada S2, S3, S5 dan S10. Untuk sampel lainnya yaitu S6, S7, S8, S9, S12 dan S13 bila dibandingkan dengan sekuens referens tidak memperlihatkan variasi dan berdasarkan kedekatan homolognya atau *identity* dengan sekuens referens menunjukkan kedekatan 100% atau dengan kata lain adalah sangat mirip/identik.

### 5.1.2. Analisa Kekerbatan (Konstruksi Pohon Filogeni) Isolat Sampel Terhadap Beberapa Isolat Yang Diperoleh Dari *Genebank*

Analisa kekerabatan antara isolat sampel dengan sekuens referens dan isolat-isolat dari tiga varian yang berbeda dilakukan dengan cara membangun pohon filogeni menggunakan Program MEGA *version 6.06*. Dari hasil kontruksi pohon filogeni didapatkan 3 *lineages* yaitu *lineage A* yang merupakan varian *Asian-American*, *lineage B* yang merupakan varian *Europe* dan *lineage C* yang merujuk pada varian *African*.



Gambar 16 : Konstruksi pohon filogenetik berdasarkan kekerabatan antara 10 isolat sampel, sekuens referens NC001357 dan 20 isolat referens yang diambil dari *genebank*. Konstruksi pohon filogenetik menggunakan metoda *Neighbor-Joining* dan model Kimura 2-parameter yang terdapat dalam program MEGA®.

## 5.2. Pembahasan

### 5.2.1. Analisa Deteksi Gen E6 HPV18

Dari total 45 sampel yang positif memiliki DNA HPV, 15 diantaranya positif Gen E6 HPV18 setelah diamplifikasi menggunakan metoda PCR memakai primer spesifik gen E6 HPV18. Primer PCR terdiri dari urutan nukleotida spesifik yang dirancang untuk hibridasi baik untai paralel atau anti-paralel dari molekul DNA target. Dalam metoda PCR, primer digunakan untuk menentukan fragmen DNA yang akan diamplifikasi/diperkuat oleh proses PCR. Panjang primer biasanya tidak lebih dari 30 (biasanya 18-24) nukleotida, dan primer harus mencocokkan awal dan akhir fragmen DNA yang akan diamplifikasi/diperkuat. Primer langsung mereplikasi terhadap satu sama lain - perpanjangan satu primer oleh polymerase akan menjadi *template* untuk yang lain, yang mengarah ke peningkatan eksponensial dalam segmen target (Patricia *et al.*, 2009; Fatchiyah *et al.*, 2011).

Proses selanjutnya terhadap produk amplifikasi isolat sampel gen E6 HPV18 adalah menentukan urutan nukleotidanya dengan memakai metoda sekuensing, dimana 15 isolat sampel yang positif Gen E6 dikirim ke 1<sup>st</sup> Base Singapore untuk proses sekuensing DNA. Hanya 10 isolat sampel yang memiliki urutan nukleotida yang bisa dibaca dengan baik oleh alat *DNA sequencer* tersebut. Hal ini mungkin disebabkan karena adanya faktor *sequencing errors* (John Meissner, 1997).

Tingkat konsentrasi DNA sampel dapat diukur menggunakan Spektrofotometer nanodrop dimana alat ini akan menangkap absorban pada panjang gelombang 260/280 nm untuk mendapatkan kemurnian DNA ataupun

RNA. Rasio kemurnian DNA yang dapat diterima yaitu antara 1.8-2.0 pada panjang gelombang 260/280 nm. Batas sampel minimum yang diperbolehkan untuk nanodrop yaitu 0-2 ul.

DNA murni dapat menyerap cahaya ultraviolet karena keberadaan basa-basa purin dan pirimidin. Pita ganda DNA dapat menyerap DNA cahaya UV pada panjang gelombang 260 nm, sedangkan kontaminan protein atau fenol akan menyerap cahaya pada panjang gelombang 280 nm, sehingga kemurnian DNA dapat diukur dengan menghitung perbandingan nilai absorbansi pada panjang gelombang 260 nm dengan nilai absorbansi 280 nm (Thermo scientific, 2009).

Konsentrasi DNA yang rendah dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu disosiasi jaringan dan presipitasi DNA dari jaringan sel yang kurang maksimal sehingga menyebabkan ekstraksi DNA dari dalam sel hanya sedikit, selain itu juga dapat disebabkan oleh pengikatan DNA yang tidak optimal saat tahap *binding* DNA. Jenis dan ukuran sampel yang digunakan pada saat isolasi juga dapat mempengaruhi konsentrasi DNA. Kemurnian DNA hasil isolasi juga sangat memengaruhi amplifikasi DNA dengan PCR, sebab jika DNA terkontaminasi dapat menyebabkan terjadinya kesalahan, seperti didapatkannya produk amplifikasi yang tidak diinginkan atau bahkan tidak spesifik. Konsentrasi DNA sebesar 10-100 ng setiap  $\mu$ l larutan *template* sudah baik untuk PCR namun yang paling penting adalah DNA harus bebas dari pengotor seperti protein atau bahan-bahan yang tersisa saat purifikasi seperti fenol atau alkohol (Sambrook & Russel, 1989).

### 5.2.2. Analisa Variasi Molekuler Isolat Sampel

Villiers *et al*, 2004 telah menjelaskan bahwa urutan nukleotida pada daerah L1 ORF yang sangat *conserved* digunakan untuk mengklasifikasikan HPV. Isolat dengan perbedaan urutan nukleotida pada L1 lebih dari 10% terhadap jenis HPV terdekat disebut dengan "tipe", sedangkan isolat dengan perbedaan kurang dari 2% disebut "varian". Data yang diperoleh dalam penelitian ini menunjukkan bahwa, dari 10 sekuen isolat sampel yang dipilih, 6 diantaranya memiliki kesamaan (homologi) sebesar 100% dan 4 lainnya memiliki homolog 99% dengan sekuen referensi NC001357. Hal ini berarti semua isolat yang digunakan dalam penelitian ini merupakan varian terhadap sekuen referensi NC001357.

Berdasarkan analisis sekuensing terhadap keseluruhan isolat yang digunakan dalam penelitian ini bila dibandingkan dengan isolat referensi ditemukan adanya perubahan urutan nukleotida (mutasi) di sepanjang 293 bp ukuran sekuen isolat yang diuji sehingga menimbulkan variasi molekuler. Keseluruhan mutasi SNPs yang terjadi pada isolat sampel bersifat *misense mutation*, artinya perubahan yang terjadi pada nukleotida akan merubah asam amino yang dihasilkan.

Salah satu penyebab terjadinya mutasi adalah karena *error of replication dna* yang disebabkan oleh tautomerisasi dari basa purin (AG) dan pirimidin (CT). Tautomer sendiri merupakan konformasi molekul kimia basa penyusun dna yang memiliki lebih dari satu bentuk, terdiri dari keto, imino dan enol. Bentuk keto adalah yang paling stabil dibandingkan dua bentuk lainnya. Apabila basa G dalam bentuk enol (dilambangkan dengan G\*) terlibat dalam proses replikasi dna, maka

basa tersebut akan berpasangan dengan T. Secara normal tidak terlihat ada kejanggalan atau perubahan. Akan tetapi apabila proses replikasi berlanjut, maka G\* kembali ke bentuk stabilnya yaitu bentuk keto dan mengikat C, sedangkan T yang tadi diikat oleh G\* akan berikatan dengan A. Secara keseluruhan peristiwa ini akan menghasilkan perubahan GC  $\rightleftharpoons$  AT yang dikenal juga dengan mutasi *transisi*, yaitu penggantian basa purin dengan purin atau pirimidin dengan pirimidin. Jika yang terjadi adalah penggantian basa purin dengan pirimidin atau sebaliknya, dikenal dengan istilah mutasi *transversi* (Griffith *et al*, 2000).

Depurinisasi adalah faktor berikutnya yang diduga dapat menyebabkan mutasi, dimana depurinisasi dianggap sebagai hilangnya basa purin (A atau G) dalam untaian dna. Salah satu hal yang dipercaya sebagai penyebabnya adalah paparan panas yang berlangsung lama dan masif sehingga menyebabkan kerusakan genetik permanen yang tidak bisa diperbaiki oleh *enzim repair gene*. Dengan hilangnya basa purin, akan menyebabkan timbulnya gap sehingga rentan untuk dimasuki oleh basa lainnya yang akan mengarah kepada proses terjadinya mutasi (Griffith *et al*, 2000)

Hal terakhir yang berperan penting dalam proses mutasi adalah deaminasi atau hilangnya gugus amina dalam basa C. Kehilangan gugus amina dalam basa C menghasilkan residu urasil (U) dan akan berikatan dengan basa A selama proses replikasi. Jika sitosin berada dalam bentuk metilasinya (dikenal dengan 5-metilsitosin), kehilangan gugus amina akan menghasilkan residu T dan bukannya U. Basa T tidak dikenali oleh enzim *Uracyl DNA Glycolase* (merupakan enzim *repair gene*) sehingga dibiarkan saja. Akibatnya transisi C menjadi T lebih umum

dan sering terjadi karena lolos dari pengawasan *enzim repair gene* (Griffith *et al*, 2000).

Dari paparan di atas dapatlah dipahami mengapa transisi C⇒G lebih umum dijumpai daripada jenis mutasi lainnya. Hal yang sama juga terlihat pada hasil penelitian yang kami lakukan, dimana berdasarkan analisis sekuensing terhadap 10 isolat sampel yang digunakan dalam penelitian ini ditemukan adanya perubahan urutan nukleotida (mutasi) di sepanjang 293 bp ukuran sekuen isolat yang diuji sehingga menimbulkan variasi molekuler. Data yang kami miliki menunjukkan bahwa berdasarkan jenis penggantian basa nukleotidanya, keseluruhan mutasi yang terjadi bersifat transversi.

Pengetahuan tentang varian HPV dan variabilitas nukleotidanya sangat penting karena dapat memberikan informasi yang berharga dalam rangka mengembangkan jenis vaksin yang sesuai untuk masyarakat Indonesia umumnya dan masyarakat di kota Padang dan Pekanbaru khususnya.

### **5.2.3. Analisa Kekerabatan (Pohon Filogenetik) Isolat Sampel**

Analisa pohon filogenetik gen E6 HPV 18 memperlihatkan bahwa terdapat enam sampel yang termasuk ke dalam varian *Asian-American* (S6, S9, S7, S8, S12, S13) dan empat sampel (S2, S5, S10, S3) yang termasuk ke dalam varian *Europe*. Ada dugaan bahwa varian dari HPV mungkin berkaitan dengan letak geografis dan komposisi ras dari penduduk yang tinggal di suatu wilayah (Lurchachaiwong *et al*, 2010; Chen *et al*, 2009; Xi *et al*, 2006). Xi *et al* 2006 melaporkan bahwa varian *African* HPV 18 dominan dijumpai pada wanita Afro

Amerika dibandingkan pada wanita kulit putih sedangkan varian Eropa juga lebih umum dijumpai pada wanita kulit putih dibandingkan pada wanita Afro Amerika. Seperti diketahui ras wanita Afro Amerika adalah negroid sedangkan ras wanita kulit putih adalah Kaukasus/Eropa.

Chen *et al*, 2009 juga melaporkan hasil penelitiannya di Taiwan bahwa varian yang umum dijumpai untuk HPV 18 pada pasien kanker serviks di sana adalah varian *Asian-American*, disusul kemudian oleh varian *Europe*. Hasil penelitian Chen *et al* ini sejalan dengan data yang kami peroleh dalam penelitian yaitu enam sampel (S6, S7, S8, S9, S12, S13) menunjukkan kemiripan dengan varian *Asian-American* sedangkan empat sampel lainnya (S2, S3, S5, S10) menunjukkan kedekatan dengan varian *Europe*. Seperti diketahui Indonesia memiliki letak geografis yang berdekatan dengan Taiwan, ditambah lagi penduduk Taiwan mayoritas adalah etnis Tionghoa dimana etnis tersebut juga banyak ditemukan di daerah kota Padang dan Pekanbaru. Di Padang sendiri terdapat perkampungan khusus untuk etnis Tionghoa yang disebut dengan ‘Kampung Pondok’ dan di kota Pekanbaru juga dijumpai perkampungan khusus etnis Tionghoa seperti di Jl. Karet, Jl. Juanda, dan disekitaran Pasar Bawah.

Penelitian yang dilakukan oleh Lurchachaiwong *et al*, 2010 pada wanita penderita kanker serviks di Thailand memperlihatkan bahwa hasil sekuensing isolat HPV 18 menunjukkan adanya kekerabatan yang erat dengan varian *Asian-American* dan *Europe*. Lurchachaiwong *et al*, 2010 juga memilih NC001357 sebagai sekuens referens. Secara geografis memang Thailand sangat berdekatan letaknya dengan Indonesia terutama Pulau Sumatera dan komposisi etnis

penduduk asli Thailand juga mirip dengan mayoritas penduduk Indonesia yaitu keturunan Melayu Polinesia.

Sejauh ini penelitian yang kami lakukan dapat dianggap sebagai studi awal mengenai gen E6 HPV 18 yang terdapat di kota Padang dan Pekanbaru yang pernah dipublikasikan. Seperti diketahui bahwa data tentang HPV sendiri di Indonesia masih sangat terbatas. Kalaupun ada penelitian yang dilakukan sebelumnya (Schellkans *et al*, 2004; Boer *et al*, 2005; Vet *et al*, 2008) kesemuanya mengambil sampel isolat di rumah sakit Ciptomangunkusumo di wilayah Jakarta. Sebenarnya ada juga penelitian yang dilakukan mengenai HPV dengan mengambil isolat sampel penderita kanker serviks di Padang dan Pekanbaru seperti yang dilakukan Aldi *et al*, 2015; Marlina *et al*, 2016. Namun para peneliti sebelumnya itu mendeteksi keberadaan HPV tipe 45 dan 52. Belum dijumpai adanya publikasi mengenai gen E6 HPV 18 di wilayah Sumatera, apalagi di kota Padang dan Pekanbaru.

Data-data SNPs pada isolat sampel bila dibandingkan dengan gambaran dari pohon filogeni menunjukkan adanya kemiripan, dimana dari data SNPs kita bisa menduga asal kekerabatan isolat sampel dan hal itu lebih dipertegas dengan gambaran yang diperlihatkan oleh pohon filogeni. Dengan demikian dapatlah disimpulkan bahwa analisa filogenetik/kekerabatan berguna dalam mengkonfirmasi keberadaan varian dimana studi mengenai variasi sekuens ini sendiri dapat memberikan informasi yang sangat berguna, salah satunya untuk pengembangan vaksin seperti yang telah disebutkan sebelumnya.

## VI. KESIMPULAN DAN SARAN

### 6.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah kami lakukan, ada beberapa kesimpulan yang bisa diperoleh, yaitu :

1. Pengamatan pada isolat sampel memang membuktikan ada variasi molekular dalam bentuk SNPs, yang terjadi pada 4 sampel yakni S2, S3, S5 dan S10 (40% dari total sampel). SNPs yang terjadi adalah transversi pada posisi nukleotida 197 (T==→C) dan nukleotida 261 (C==→A). Sedangkan 6 sampel lainnya tidak dijumpai adanya SNPs yaitu sampel S6, S7, S8, S9, S12, dan S13 (60% dari total sampel).
2. SNPs yang terdapat pada isolat sampel ternyata bersifat *misense mutation* karena merubah asam aminonya bila dibandingkan dengan sekuens referens yaitu F66S dan N87K. Sedangkan pada 6 sampel lainnya yang tidak mengalami SNPs tidak dijumpai perubahan asam amino bila dibandingkan dengan sekuens referens.
3. Analisa kekerabatan yang dilakukan terhadap kesepuluh isolat sampel dalam bentuk pohon filogeni menunjukkan bahwa sampel yang tidak mengalami SNPs ternyata memiliki kekerabatan yang lebih dekat dengan varian Asian-American, sedangkan sampel yang mengalami SNPs lebih dekat kekerabatannya dengan varian Eropa.

## 6.2 Saran

Perlu dilakukan analisa lebih lanjut terhadap isolat sampel yang mengalami SNPs dan memiliki perubahan asam amino, misalnya apakah protein yang dimilikinya juga ikut mengalami perubahan atau tidak. Apabila ternyata memang proteinnya berubah, diduga hal ini akan berpengaruh pada fungsinya.

