

I. PENDAHULUAN

Kanker serviks menduduki urutan kedua dari penyakit kanker yang menyerang perempuan di dunia dan urutan pertama untuk wanita di negara sedang berkembang (Emilia, dkk., 2010). Berdasarkan data World Health Organisation tahun 2007, kanker serviks merupakan jenis kanker penyebab kematian kedua pada wanita di seluruh dunia, dengan insiden sebesar 25-40 per 100.000 wanita per tahun. Selanjutnya, 90% dari 500.000 kasus baru dan 260.000 kasus kematian akibat kanker serviks terjadi di negara berkembang.

Kanker serviks mempunyai frekuensi relatif tertinggi di Indonesia. terdapat sekitar 100 kasus per 100 ribu penduduk atau 200 ribu kasus setiap tahunnya (Bustan, 2007). WHO telah melaporkan bahwa sekitar 70% kejadian kanker serviks disebabkan oleh infeksi virus *Human Papillomavirus* (HPV). Ada beberapa faktor resiko yang berhubungan dengan kanker serviks, diantaranya adalah berganti-ganti pasangan, aktivitas seksual sangat muda. Faktor-faktor resiko tersebut merupakan perilaku seksual yang mempermudah terjadinya infeksi HPV (Sarwono, 2006).

HPV merupakan virus kecil dari genus papillomavirus yang memiliki DNA untai ganda sirkular. HPV ditransmisikan secara seksual oleh orang yang telah terinfeksi HPV. Infeksi HPV dapat berkembang dan menyebabkan berbagai macam penyakit seperti kutil kelamin, kanker serviks, vagina dan anus (Dunne & Markowitz, 2006).

HPV dapat dibedakan atas HPV *low risk* (HPV risiko rendah), disingkat lr-HPV, dan HPV *high risk* (HPV risiko tinggi), disingkat hr-HPV. HPV tipe 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, dan 81 dapat menimbulkan penyakit kutil kelamin (*genital warts/condyloma acuminata*). Lebih dari 90% kanker serviks disebabkan oleh HPV tipe 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73, dan 82 (Androphy, 2007). HPV tipe 16 dan 18 HPV memiliki peran besar dalam menyebabkan kanker serviks di seluruh dunia (WHO, 2007).

HPV tidak dapat dibudidayakan di laboratorium. Oleh karena itu, HPV dapat dideteksi dan didiagnosa dengan teknologi molekuler menggunakan sampel vagina atau bagian serviks. Teknik molekuler terbagi atas teknologi yang tidak memanfaatkan amplifikasi, seperti tes pemeriksaan asam nukleat dan teknologi yang memanfaatkan amplifikasi, seperti *Polymerase Chain Reaction* (PCR) (Clavel, *et al.*, 1998).

Amplifikasi DNA target merupakan dasar prosedur laboratorium yang menggandakan fragmen DNA dari urutan *sequence* sebuah gen. Ada beberapa jenis teknologi amplifikasi DNA target, namun PCR adalah teknologi yang paling umum yang digunakan untuk mendeteksi HPV. Karena ada banyak jenis HPV dengan potensi onkogenik berbeda-beda, tes diagnostik tidak hanya harus mendeteksi HPV DNA, tapi juga dapat menentukan tipe – tipe dari HPV yang ada dalam setiap spesimen. PCR adalah prosedur laboratorium standar yang dapat disesuaikan untuk mendeteksi dan menentukan tipe HPV (Clavel, *et al.*, 1999).

PCR merupakan metode yang dapat melipat gandakan segmen DNA dalam tabung dengan bantuan enzim DNA *polymerase*. Salah satu kelebihan dari

metodologi PCR ini terletak pada kemampuannya untuk mendeteksi jumlah yang sangat kecil dari DNA HPV (Nindl, *et al.*, 1999). Prinsip kerja metode PCR yaitu mengubah rantai ganda DNA menjadi helaian tunggal, terbentuknya ikatan antara primer dan terjadi pemanjangan DNA dengan bantuan enzim *Taq Polymerase* (Matsunaga, *et al.*, 1999).

Perkembangan teknik biologi molekular memudahkan deteksi banyak *genotipe* HPV, salah satunya dengan metode PCR (Novel, *et al.*, 2012). *Multiplex Polymerase Chain Reaction* (MPCR) merupakan variasi metode PCR dengan proses amplifikasi secara simultan pada beberapa daerah DNA *template* dengan menambahkan lebih dari satu pasang *primer* ke campuran reaksi amplifikasi. Dengan mengaplikasikan lebih dari satu pasang *primer* dalam satu reaksi, MPCR menjadi pengujian yang cepat dan sesuai untuk masalah klinis serta penelitian. Metode ini telah sukses diterapkan pada banyak tes DNA seperti analisa forensik, mutasi, dan transkripsi (Schoske, *et al.*, 2003).

Keberhasilan amplifikasi DNA tergantung dari ketepatan *primer* yang digunakan. *Primer* berfungsi sebagai pembatas kedua ujung fragmen DNA target yang akan diamplifikasi (Handoyo & Rudiretna, 2001). Desain *primer* dilakukan untuk memperoleh *primer* spesifik dengan gen target. Untuk itu urutan basanya harus komplementer atau setidaknya-tidaknya memiliki homologi yang cukup tinggi dengan urutan basa kedua daerah ujung fragmen yang akan diamplifikasi (Aris, *et al.*, 2013).

Gen E6 dan E7 merupakan gen yang berperan penting dalam proses terjadinya kanker dan dianggap bertanggung jawab atas terjadinya transformasi sel. Gen ini

merupakan bagian dari *Open Reading Frames* (ORFs) HPV. E6 dan E7 adalah gen-gen pengubah dari HPV yang mampu membentuk kompleks dengan pRb dan p53 (Mikhailov, *et al.*, 2007). Onkogen yang disandikan oleh gen E6 memiliki kemampuan mengikat protein pengatur sel inang, khususnya produk dari tumor *suppresor gene* p53. Perubahan ini akan menyebabkan degradasi p53 oleh gen E6, sehingga akan terjadi proliferasi sel yang tidak dapat dikontrol (Doorbar, 2006).

Analisis PCR dengan *primer* spesifik merupakan langkah terbaik untuk deteksi keberadaan gen virus, bakteri patogen, dan gen lainnya karena dapat mendeteksi secara cepat keberadaan gen target (Aris, *et al.*, 2013). Identifikasi HPV dilakukan menggunakan desain *primer* dengan *sequence* gen E6. Gen E6 merupakan salah satu gen pada HPV yang berperan dalam patogenesis kanker (Hakim, 2010).

Penelitian ini dilakukan untuk melakukan identifikasi DNA HPV menggunakan desain *primer* terhadap HPV tipe 16 dan tipe 18. Desain *primer* spesifik gen E6 HPV tipe 16 dan tipe 18 ini dapat digunakan pada metoda MPCR sebagai suatu model penggunaan perangkat bioinformatika yang menunjang proses amplifikasi gen, karena proses cepat dan akurat sangat dibutuhkan untuk mencegah ataupun mengurangi penyebaran infeksi virus HPV. Hasil identifikasi menggunakan desain *primer* HPV tipe 16 dan tipe 18 akan dibandingkan dengan hasil identifikasi menggunakan *primer* gen E6 yang telah lazim digunakan untuk identifikasi HPV tipe 16 dan 18. Penelitian akan membandingkan pita yang dihasilkan oleh kedua *primer* yang digunakan (*primer* yang lazim digunakan dan desain *primer* gen E6), apakah *primer* yang didesain ini dapat mengidentifikasi

DNA HPV pada pasien kanker serviks dan pita yang dihasilkan oleh *primer* baru ini akan tampak lebih bagus dibandingkan dengan pita yang dihasilkan oleh *primer* yang telah lazim digunakan.

