

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Virus Human Papilloma (HPV) adalah virus yang sangat menular dan sering terkait dengan kanker serviks serta penyakit genital seperti kutil kelamin sehingga memberikan tantangan kesehatan masyarakat yang signifikan baik di dalam negeri maupun di seluruh dunia. Infeksi HPV merupakan satu dari sekian penyebab paling umum terjadinya penyakit menular seksual baik itu pada pria maupun wanita di seluruh dunia (Setiawati, 2014). Estimasi prevalensi infeksi HPV secara global adalah sekitar 620.000 kasus baru pada wanita dan 70.000 kasus baru pada pria di tahun 2019 (de Martel, *et al.*, 2020).

Metode *gold standard* untuk mendeteksi adanya infeksi oleh HPV adalah menggunakan sampel swab serviks, yang diperoleh melalui prosedur invasif dengan pengambilan sampel langsung dari leher rahim. Prosedur ini telah terbukti memberikan hasil yang akurat karena jumlah DNA virus di area tersebut relatif tinggi (Schiffman, *et al.*, 2007). Pengambilan sampel menggunakan swab serviks efektif, meskipun memiliki beberapa keterbatasan. Prosedur ini dianggap tidak nyaman bagi banyak pasien, memerlukan tenaga medis yang terlatih, dan memiliki risiko kontaminasi silang jika tidak dilakukan dengan benar (Arbyn *et al.*, 2018). Penelitian terus dikembangkan sebagai akibat dari hal tersebut untuk mengeksplorasi metode alternatif yang lebih non-invasif, seperti penggunaan sampel urine.

Urine dianggap sebagai alternatif yang potensial karena pengumpulannya mudah dan tidak invasif. Namun, salah satu tantangan utama dalam menggunakan urine sebagai sampel adalah rendahnya konsentrasi DNA HPV dibandingkan dengan swab serviks, sehingga diperlukan optimasi pada proses isolasi DNA untuk meningkatkan sensitivitas deteksi (Nilyanimit, *et al.*, 2017). Penelitian yang dilakukan oleh Yang *et*

al. (2023) menunjukkan bahwa deteksi HPV pada spesimen urin menghasilkan akurasi yang hampir setara dengan spesimen swab serviks. Deteksi HPV melalui urin, meskipun demikian, diketahui urin memiliki tingkat sensitivitas yang secara signifikan lebih rendah.

Salah satu aspek yang dapat dioptimalkan dalam isolasi DNA HPV dari sampel urine adalah parameter sentrifugasi, yang memengaruhi efisiensi pengendapan dan ekstraksi DNA dari sampel. Aspek berikutnya yang juga dapat dioptimalkan adalah terkait dengan penambahan dilusi. Penambahan dilusi bertujuan untuk mengurangi konsentrasi inhibitor PCR yang sering ditemukan dalam urin, seperti urea dan garam-garam anorganik. Dilusi juga dapat meningkatkan efisiensi pelisisan sel dengan mengurangi viskositas sampel, sehingga memungkinkan akses lebih baik bagi enzim-enzim ekstraksi DNA. Beberapa penelitian telah melaporkan bahwa penggunaan dilusi dapat meningkatkan hasil ekstraksi DNA. Penelitian oleh van den Brule, *et al.* (2002) menunjukkan bahwa dilusi spesimen urin dapat mengurangi efek inhibitor pada amplifikasi PCR. kombinasi penambahan dilusi dengan sentrifugasi juga telah dilaporkan efektif dalam memisahkan inhibitor dari komponen DNA target. Langkah ini memungkinkan konsentrasi DNA target lebih tinggi pada pellet yang dihasilkan, sehingga meningkatkan akurasi dan efisiensi deteksi. Penelitian oleh Clarke, *et al.* (2018) mendukung penggunaan kombinasi metode ini dalam optimalisasi deteksi DNA patogen dari spesimen urin. Penelitian oleh Vorsters, *et al.*, (2014) juga menekankan pentingnya metode ekstraksi yang efektif untuk meningkatkan deteksi DNA dalam sampel. Selain itu, Pattyn, *et al.*, (2019) membahas bahwa deteksi DNA HPV dalam sampel urine dapat menjadi alternatif yang efisien dan akurat dibandingkan dengan sampel serviks, asalkan metode pengumpulan dan ekstraksi dioptimalkan dengan baik. Dengan demikian, melakukan optimasi pada sentrifugasi dan penambahan dilusi dalam proses isolasi DNA dari sampel urine menjadi krusial untuk meningkatkan efisiensi dan kualitas ekstraksi DNA HPV, sehingga hasilnya dapat sebanding dengan metode standar yang menggunakan swab serviks

Hasil isolasi DNA dari sampel urine dapat divalidasi dengan membandingkan nilai Cq (*quantification cycle*) yang merupakan hasil data dari metode Real-Time PCR. Metode *Real-Time Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR) merupakan metode molekuler yang sering dilakukan dalam mendeteksi adanya infeksi HPV. Hal ini dikarenakan metode RT - PCR diketahui adalah metode yang memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi serta dapat mendeteksi berbagai tipe HPV sehingga lebih fleksibel (Ilyas, 2023). Nilai Cq pada RT-PCR mencerminkan siklus amplifikasi di mana sinyal fluoresensi dari DNA target melewati ambang deteksi, sehingga semakin rendah nilai Cq, semakin tinggi konsentrasi DNA target yang berhasil diisolasi (Kubista, *et al.*, 2006). Optimasi pada sentrifugasi serta penambahan dilusi, diharapkan dapat meningkatkan efisiensi isolasi DNA dari urine, sehingga kualitas DNA yang diperoleh mendekati hasil isolasi dari swab serviks. Dengan pendekatan ini, metode non-invasif menggunakan sampel urine dapat menjadi alternatif dengan nilai akurasi deteksi HPV yang baik. Penelitian sebelumnya telah menunjukkan potensi penggunaan urine untuk deteksi HPV, tetapi efisiensinya sangat bergantung pada proses pra-analitik, termasuk isolasi DNA yang optimal (Vorsters, *et al.*, 2014; Pattyn, *et al.*, 2019).

Optimasi isolasi DNA HPV pada sampel urin merupakan hal yang penting untuk diteliti karena berpotensi menjadi pendekatan diagnostik yang lebih praktis dan diterima dalam mendeteksi HPV secara non invasif. Hal ini menjadi alasan penulis tertarik untuk mengangkat topik mengenai “optimasi isolasi DNA HPV dari spesimen urin menggunakan metode Real-Time PCR”

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana gambaran efisiensi deteksi DNA HPV menggunakan metode Real-Time PCR berdasarkan nilai Cq pada berbagai kecepatan sentrifugasi ?
2. Bagaimana pengaruh penambahan dilusi terhadap kualitas isolasi DNA HPV dari spesimen urin yang diukur berdasarkan nilai Cq ?

3. Bagaimana hubungan antara kecepatan sentrifugasi dan penambahan dilusi terhadap efisiensi isolasi DNA HPV ?
4. Bagaimana optimasi isolasi DNA HPV dari spesimen urin dengan melihat nilai Cq ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan umum dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh kecepatan sentrifugasi dan penambahan dilusi terhadap efisiensi deteksi DNA HPV menggunakan metode *Real-Time Polymerase Chain Reaction*.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Untuk mengetahui gambaran efisiensi deteksi DNA HPV menggunakan metode Real-Time PCR dengan mengukur nilai Cq pada masing – masing kecepatan sentrifugasi .
2. Untuk mengetahui pengaruh penambahan dilusi terhadap kualitas isolasi DNA HPV dari spesimen urin dengan membandingkan nilai Cq antara kelompok yang diberi dilusi dengan yang tidak diberi dilusi.
3. Untuk mengetahui hubungan antara kecepatan sentrifugasi dan penambahan dilusi terhadap efisiensi isolasi DNA HPV.
4. Untuk melakukan optimasi isolasi DNA HPV dari spesimen urin dengan melihat nilai Cq

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Bagi Peneliti

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi panduan dan referensi bagi penelitian selanjutnya yang berfokus pada optimasi metode isolasi DNA

1.4.2 Bagi Ilmu Pengetahuan

Penelitian ini diharapkan memberikan kontribusi penting terhadap perkembangan ilmu pengetahuan, khususnya dalam pengembangan Teknik diagnostik non-invasif berbasis biomolekuler

1.4.3 Bagi Masyarakat

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat mengenai potensi penggunaan sampel urin sebagai alternatif pemeriksaan Human Papillomavirus (HPV) yang lebih mudah, nyaman, dan tidak invasif, serta pentingnya deteksi dini HPV sebagai upaya pencegahan kanker serviks

