

## BAB I PENDAHULUAN

Kanker serviks menjadi salah satu masalah utama pada kesehatan perempuan di dunia. Menurut *World Health Organization/WHO* (2020) diperkirakan terdapat sebanyak 604.000 kasus baru dan 342.000 kematian disebabkan oleh kanker serviks yang terjadi akibat kontak seksual (Sung *et al.*, 2021). Berdasarkan laporan dari *The Global Cancer Observatory/GLOBOCAN* pada tahun 2020, kasus terbaru kanker serviks di Indonesia sebanyak 17,2% atau sebesar 36.633 jiwa menempati posisi kedua setelah kanker payudara dan menempati posisi ketiga penyebab kematian akibat seluruh kanker (Andinata *et al.*, 2023).

Kanker serviks ditandai dengan adanya pertumbuhan sel-sel pada serviks yang tidak lazim (abnormal). Proses terjadinya kanker ini dimulai dengan sel yang mengalami mutasi lalu berkembang menjadi sel displastik sehingga terjadi kelainan epitel yang disebut displasia atau *Cervical Intraepithelial Neoplasia* (CIN). Displasia ini dimulai dari displasia ringan (CIN I), displasia sedang (CIN II), displasia berat, displasia berat dan karsinoma in-situ (CIN III), kemudian berkembang lagi menjadi karsinoma invasif. Tingkat displasia dan KIS (Karsinoma In Situ) dikenal juga sebagai tingkat pra-kanker. Dari displasia menjadi karsinoma in-situ diperlukan waktu 1-7 tahun sedangkan karsinoma in-situ menjadi karsinoma invasif berkisar 3-20 tahun (Ahmad, 2020). Penyebab awal (prekursor) langsung terjadinya kanker serviks adalah displasia tingkat tinggi (CIN II atau III), yang dapat berkembang menjadi kanker serviks dalam waktu sepuluh tahun atau lebih. Sebagian besar displasia tingkat rendah (CIN I) dapat hilang tanpa diobati atau tidak berkembang, terutama perubahan-perubahan yang terlihat pada perempuan remaja (Imelda dan Santosa, 2020).

Deteksi dini kanker serviks dapat dilakukan dengan metode inspeksi visual asetat (IVA), pap smear, kolposkopi, pemeriksaan sitologi dan pemeriksaan *Human papillomavirus* (HPV). Metode IVA, pap smear, kolposkopi dan sitologi merupakan metode sederhana yang sudah mulai ditinggalkan di dunia medis karena metode tersebut dinyatakan kurang sensitif dan sangat ditentukan oleh kemampuan tenaga medis dalam menegakkan diagnosanya (Banerjee *et al.*, 2022). Pap smear adalah teknik sitologi yang diperkenalkan dr. G. Papanicolaou dan dr. A Babel pada 1928. Hasil Pap smear dapat

mendeteksi adanya infeksi HPV dan lesi pra-kanker serviks dengan melihat adanya perubahan sel-sel yang terjadi di permukaan sel mulut rahim (angka sensitivitas 60-80%) (Adhi, 2020).

Pemeriksaan inspeksi visual asetat (IVA) secara klinik merupakan pemeriksaan yang dilakukan dengan mengamati mulut rahim dengan terlebih dahulu memberikan pulasan asam asetat (asam cuka) 3-5%. Dugaan adanya kanker serviks bila di permukaan serviks ditemukan adanya epitel atau permukaan sel berwarna putih (angka sensitivitas mencapai 70%). Kolposkopi adalah pemeriksaan oleh dokter spesialis *obstetrics and gynecology* dengan menggunakan alat kolposkopi, yaitu mikroskop binokuler dengan sumber cahaya yang terang. Alat ini digunakan untuk membesarkan gambaran visual serviks, sehingga dapat menegakkan diagnosis adanya kelainan serviks sampai kanker serviks (Adhi, 2020).

Pemeriksaan DNA HPV dilakukan untuk mendeteksi adanya infeksi HPV dengan cara melakukan *swab* pada lendir mulut rahim, pemeriksaan ini bisa dilakukan bersamaan dengan pap smear. Bila hasilnya positif, menandakan adanya infeksi HPV onkogenik (Adhi, 2020). Pada penelitian telah ditemukan HPV DNA pada 99,7% pada semua karsinoma serviks dan tipe yang paling sering ditemukan adalah tipe 16, 18, 31 dan 45. Ini telah dibuktikan bawah infeksi oleh HPV resiko tinggi sangat penting dalam perkembangan kanker serviks dan menjadi alasan WHO untuk menetapkan bahwa HPV 16 dan HPV 18 menjadi agen karsinogen pada manusia (Lipinwati, 2014).

Diagnosis secara molekuler dapat lebih cepat mendeteksi HPV sebelum pertumbuhan sel abnormal diketahui melalui pemeriksaan sitologi sehingga dapat dijadikan indikasi awal timbulnya penyakit. Pengembangan teknik biologi molekuler seperti hibridisasi asam nukleat *Southern blot* dan *dot blot*, *Hybrid Capture II* (teknik amplifikasi sinyal), *Polymerase Chain Reaction* (PCR) amplifikasi target DNA, PCR-*reverse dot/line blot* dan *real time* PCR, telah banyak diterapkan untuk deteksi HPV (Lipinwati, 2014). Teknik pengambilan dan pengiriman sampel untuk pemeriksaan molekuler cukup sederhana yaitu hanya dengan mengusapkan suatu sikat kecil pada serviks dan memasukkannya ke dalam satu *tube* kecil berisi cairan khusus sebelum dikirim ke laboratorium (Banerjee *et al.*, 2022).

Sebelum pelaksanaan proses PCR, ekstraksi DNA merupakan langkah penting karena dapat menentukan sensitivitas pemeriksaan. Sensitivitas dalam konteks ekstraksi DNA merujuk pada kemampuan metode ekstraksi untuk mendeteksi dan mengisolasi DNA dari sampel secara efektif dan efisien. Sensitivitas ini menunjukkan proporsi subjek yang positif menurut standar yang diidentifikasi sebagai *true positive* (Iskandar *et al.*, 2023). Banyak metode telah dilakukan di beberapa tahun terakhir untuk ekstraksi DNA. Metode tersebut terdiri dari beberapa prinsip yaitu secara enzimatik, kimia, atau pelisisan secara mekanik, dan bahkan kombinasi dari beberapa prinsip tersebut (Barbosa *et al.*, 2016). Tujuan dikembangkannya metode ekstraksi DNA adalah untuk mendapatkan hasil ekstraksi yang terbaik (Silva *et al.*, 2012). Ekstraksi DNA dengan metode yang baik dan tepat dapat menghasilkan DNA yang banyak dengan memaksimalkan kemurnian serta membebaskan DNA dari kontaminan. Dalam memilih metode ekstraksi DNA, faktor yang perlu dipertimbangkan ialah kemurnian sampel, efisiensi biaya, durasi paparan bahan kimia, waktu pengerjaan dan langkah yang diperlukan (Boesenberg-Smith *et al.*, 2012).

Sensitivitas deteksi HPV DNA ditentukan oleh konsentrasi, kemurnian dan hibridisasi dot blot. Konsentrasi dan kemurniaan DNA ditentukan dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 260 nm dan 280 nm. Molekul DNA dikatakan murni jika memiliki kemurnian berkisar antara 1,8 – 2,0 dan untuk konsentrasi DNA yang baik di atas 100 ng/μL (Dewanata dan Mushlih, 2021). Hasil ekstraksi DNA yang tidak murni atau terkontaminasi dapat memiliki dampak signifikan pada penggunaan DNA tersebut dalam penelitian atau aplikasi tertentu. Jika hasil DNA ekstraksi tidak murni dan jumlahnya sedikit, dapat berpengaruh pada penurunan sensitivitas deteksi (Boesenberg-Smith *et al.*, 2012). Untuk mengetahui keberadaan DNA HPV *Genotyping* digunakan teknik hibridisasi dimana ditandai dengan munculnya dot blot pada membran yang telah tertanam probe spesifik tertentu (Xpressmatrix, 2023).

Penelitian ini pernah dilakukan sebelumnya oleh Ni'mah *et al.* (2021), yaitu “Perbandingan Kuantitas dan Kualitas DNA *Bacillus sp.* antara *Heat Treatment* dan Filter berbasis Kit”. Perbedaan penelitian ini dengan penelitian sebelumnya terletak pada sampel dan konfirmasi hasil yang digunakan untuk penelitian. Pada penelitian sebelumnya menggunakan *Bacillus sp.* sedangkan penelitian ini menggunakan *Human*

*papillomavirus* (HPV). Konfirmasi hasil dalam penelitian ini menggunakan pengukuran konsentrasi dan kemurnian DNA serta hibridisasi dot blot sedangkan penelitian sebelumnya menggunakan pengukuran LoD dan LoQ.

Dalam penelitian ini, fokus diberikan kepada metode ekstraksi yang digunakan untuk mendapatkan sensitivitas berdasarkan tingkat kemurnian dan konsentrasi DNA yang tinggi serta hasil hibridisasi HPV DNA *Genotyping*. Hal ini dapat mengefisienkan waktu, biaya dan penggunaan bahan sehingga proses deteksi dapat dilakukan dengan cepat dan tepat.

Untuk mendapatkan DNA, pada penelitian ini digunakan metode ekstraksi membran selektif dan lisis pemanasan. Pada ekstraksi membran selektif, digunakan membran QIAamp MinElute dari kit komersial QIAamp DNA *Micro* Kit yang dilakukan dengan beberapa proses, yaitu lisis, pengikatan DNA ke membran selektif, pembersihan residu kontaminan dan elusi dengan *Buffer* AE. Pada metode ekstraksi lisis pemanasan digunakan kit komersial HPV XpressMatrix™, proses yang dilakukan adalah lisis, pembersihan residu kontaminan dan elusi dengan ddH<sub>2</sub>O. Selanjutnya hasil dari kedua metode ekstraksi tersebut dilanjutkan kepada proses amplifikasi PCR lalu pembacaan hasil dilakukan dengan pengukuran spektrofotometri *Nanodrop 2000* dan dikonfirmasi dengan hibridisasi dot blot DNA komplementer menggunakan kit HPV XpressMatrix™.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk membandingkan sensitivitas metode ekstraksi membran selektif dengan lisis pemanasan terhadap deteksi HPV DNA *Genotyping*. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang metode ekstraksi DNA yang terbaik dalam deteksi HPV DNA *Genotyping* pada sampel *swab* serviks. Selain itu, dapat menambah ilmu pengetahuan terutama pada bidang molekuler.

Berdasarkan kajian yang telah dijelaskan sebelumnya, hipotesis yang diuji dalam penelitian ini adalah “Metode ekstraksi menggunakan membran selektif memiliki tingkat sensitivitas yang sama dengan metode ekstraksi lisis pemanasan terhadap deteksi HPV DNA *Genotyping*”.