

DETEKSI GEN *E6* SEBAGAI PENANDA INFEKSI *HUMAN PAPILOMA VIRUS* (HPV) PADA IBU HAMIL DENGAN RIWAYAT KEGUGURAN MENGGUNAKAN METODE *POLYMERASE CHAIN REACTION* (PCR) DI PUSKESMAS PUUWATU KOTA KENDARI

Sanatang¹ · Musdalifah Meronda² · Titi Purnama³ · Waode Azkiya'tul Fauziyah⁴

^{1,2,3,4} D4 Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Mandala Waluya, Provinsi Sulawesi Tenggara, Indonesia
e-Mail: titipurnam@gmail.com
No Tlp WA : 085338078890

Abstract

A history of miscarriage in pregnant women is a risk factor for infection with the Human Papilloma Virus (HPV), a virus that can cause infections on the surface of the genital skin, which can cause cervical cancer. One of the antigens that codes for HPV infection is the E6 gene. The E6 gene is a gene that has great potential as an HPV target. This research aims to detect the E6 gene in pregnant women who have a history of miscarriage using the Polymerase Chain Reaction (PCR) method. The type of research carried out is qualitative research. The population in this study was 15 pregnant women who had a history of miscarriage at the Puuwatu Community Health Center, while the number of samples used was 13 respondents. This research method consists of DNA isolation, DNA concentration measurement, DNA amplification of the E6 gene and DNA visualization. The research results show that in table 4 the respondents in this study were mostly aged 26-35 years with a percentage of 46% having a history of miscarriage. 1 sample was positive for the formation of a band measuring 476 bp which indicated the presence of the E6 gene as a marker of Human Papilloma Virus (HPV) infection in the sample code A4 with a 44 year old pregnant woman and a history of 4 miscarriages.

Keywords : *Pregnant Women, History of Miscarriage, Human Papilloma Virus (HPV), E6 Gene, Polymerase Chain Reaction*

Abstrak

Riwayat keguguran pada ibu hamil merupakan salah satu faktor resiko infeksi *Human Papiloma Virus* (HPV) adalah virus yang dapat menyebabkan infeksi dipermukaan kulit kelamin, yang dapat menyebabkan kanker serviks, salah satu antigen yang mengkode infeksi HPV adalah gen *E6*. Gen *E6* merupakan gen yang berpotensi besar sebagai target HPV. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi gen *E6* pada ibu hamil yang memiliki riwayat keguguran menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Jenis penelitian yang dilakukan adalah menggunakan penelitian kualitatif. Populasi dalam penelitian ini ialah sebanyak 15 ibu hamil yang memiliki riwayat keguguran Di Puskesmas Puuwatu, sedangkan jumlah sampel yang digunakan sebanyak 13 responden. Metode penelitian ini berupa isolasi DNA, pengukuran konsentrasi DNA, amplifikasi DNA gen *E6* dan Visualisasi DNA. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada tabel 4 responden pada penelitian ini lebih banyak pada usia 26-35 tahun dengan presentase 46% memiliki riwayat keguguran. 1 sampel yang positif terbentuknya pita berukuran 476 bp yang menandakan bahwa adanya gen *E6* sebagai penanda infeksi *Human Papiloma Virus* (HPV) pada sampel kode A4 dengan ibu hamil berusia 44 tahun dan memiliki riwayat keguguran sebanyak 4 kali.

Kata Kunci : *Ibu Hamil, Riwayat Keguguran, Human Papiloma Virus (HPV), Gen E6, Polymerase Chain Reaction (PCR)*

PENDAHULUAN

Kanker serviks merupakan kanker tersering pada wanita dan merupakan penyebab kematian terbanyak ketiga diseluruh dunia penyebab kematian pertama di negara berkembang. Bukti kuat pendukung kanker serviks disebabkan oleh infeksi *Human Papiloma Virus* (HPV), dengan resiko tinggi *Human Papiloma Virus* (HPV) sebtipe genital meningkatkan resiko beragam penularan (Simangungsong dkk., 2019). Kanker serviks juga merupakan satu-satunya kanker yang disebabkan oleh terjadinya infeksi virus *Human Papiloma Virus* (HPV) sub tipe onkogenik. Penularan virus ini bisa terjadi melalui hubungan seksual, terutama dengan pasangan yang sering berganti. *Human Papiloma Virus* ini memiliki sekitar 130 tipe dan yang paling sering menginfeksi pada manusia yaitu tipe 6, 11, 16 dan tipe 18 (Setianingsih dkk.,2022).

Berdasarkan data *Global Burdenof Cancer* (GLOBUCAN) tahun 2020, secara global kanker serviks menempati urutan keenam terbanyak pada wanita di dunia. Pada tahun 2020, perkiraan 604.000 wanita didiagnosis kanker serviks di seluruh dunia dan sekitar 342.000 wanita meninggal karena kanker serviks (Khabibah dkk., 2022). *The International Agency For Reseachon Cancer* (IARC) menyebutkan bahwa terdapat 408.661 kasus baru dan sebanyak 242,988 kematian di indonesia pada tahun 2022 selain itu IARC memprediksi terjadi peningkatan 77% kasus kanker pada tahun 2050 (Kemenkes, 2024).

Data yang diperoleh dari Dinas Kesehatan Provinsi Sulawesi Tenggara jumlah kasus kanker serviks diseluruh Puskesmas Kota Kendari pada tahun 2023 ditetapkan sebanyak 8 kasus kanker serviks (Dinkes kota kendari, 2023). Prevalensi penderita kanker serviks di Sulawesi Tenggara yaitu sebesar 1,1 atau diperkirakan sekitar 2,608 orang jumlah tersebut masih berada dibawah rata-rata nasional (Heyrani dkk., 2023). Berdasarkan data yang diperoleh di Puskesmas Puuwatu Kendari ibu hamil yang memiliki riwayat keguguran pada tahun 2022 dari Januari sampai Desember terhitung sebanyak 88 orang, sedangkan pada tahun 2023 dari bulan Januari sampai Desember di tetapkan sebanyak 119 ibu hamil yang memiliki riwayat keguguran. Sampel yang diambil pada penelitian ini pada bulan Desember 2023 sebanyak 15 orang (Puskesmas Puuwatu, 2024).

Infeksi HPV berperan penting dalam proses perkembangan kanker serviks, yang merupakan salah satu pendorong penting terjadinya kanker serviks. Gen HPV

berintegrasi ke dalam genom sel serviks, kemudian mengubah keadaan genom sel serviks, yang pada akhirnya menciptakan perubahan penting dalam perilaku biologis sel serviks, seperti mengubah keadaan kekebalan normal sel serviks, (Yangchun dkk., 2020).

Early Region (E) sekitar 45% dari genom terdiri dari protein E1, E2, E3, E4, E5, E6 dan E7. Protein E1 berperan dalam kontrol replikasi episomal DNA, protein E2 berperan dalam siklus hidup yang menekan atau mengaktifkan promotor virus, protein E4 terlibat dalam pematangan partikel virus dan protein E5 bergabung dalam membran sitoplasma, dua onkoprotein transformasi dihasilkan oleh E6 dan E7 (Liptinwati, 2014). Gen E6 adalah gen yang menghasilkan *oncoprotein* yang menghambat kerja dari protein penghambat tumor yakni protein p53 melalui protein ligase E6. Akibatnya proses transkripsi dari p53 dan proses apoptosis terhambat.

Abortus adalah penghentian kehamilan sebelum janin dapat hidup di luar rahim yang usia kurang dari 20 minggu usia kehamilan dengan berat janin kurang dari 500 gram. Sebagian besar abortus spontan terjadi segera setelah kematian janin yang kemudian diikuti dengan perdarahan ke dalam desiduas, lalu terjadi perubahan-perubahan nekrotik pada daerah implantasi, infiltrasi sel-sel peradangan akut dan akhirnya perdarahan vagina yang menyebabkan hasil kontrasepsi terlepas dan dianggap benda asing dalam uterus. Kemudian uterus berkontraksi untuk mengeluarkan benda asing tersebut (Purwaningrum dan Arulita, 2017).

Berdasarkan penelitian sebelumnya oleh Pranani dkk., (2019) yang dijadikan sebagai sumber referensi, optimasi deteksi gen E6 pada *Human Papiloma Virus* resiko tinggi dengan *Polymerase Chain Reaction* untuk mendiagnosis adanya HPV yang beresiko tinggi pada DNA yang terisolasi jaringan kanker serviks. Gen E6 merupakan gen yang sangat dibutuhkan oleh HPV untuk bertahan hidup, sehingga dapat meningkatkan kemungkinan tingginya tingkat replikasi gen E6 pada saat virus menginfeksi sel inang, gen E6 juga berperan dalam mengganggu siklus sel melalui inaktivasi tumor suppressor protein p53 serta memfasilitasi replikasi virus (Pranani dkk., 2019).

Penelitian menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) untuk mengetahui keberadaan gen E6 pembawa virus *Human Papiloma Virus* (HPV) pada wanita dengan riwayat keguguran belum pernah dilakukan sebelumnya. Sehingga penelitian ini menggunakan metode PCR untuk membantu dalam mendeteksi adanya

gen pembawa HPV pada wanita dengan riwayat keguguran. Oleh karena itu berdasarkan latar belakang diatas, maka penulis tertarik untuk melakukan penelitian dengan judul “Deteksi Gen *E6* Sebagai Penanda Infeksi *Human Papiloma Virus* (HPV) Pada Ibu Hamil Dengan Riwayat Keguguran Menggunakan Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) Di Puskesmas Puuwatu Kota Kendari”.

BAHAN DAN METODE

Populasi dalam penelitian ini ialah sebanyak 15 ibu hamil yang memiliki riwayat keguguran Di Puskesmas Puuwatu Kota Kendari, sedangkan jumlah sampel yang digunakan sebanyak 13 responden. Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah tabung darah, tabung ependeroff 1,5 , PCR thermocycler, tabung PCR, elektroforesis, sentrifuge, mikropipet, tip, UV transilluminator, cetakan agarose, kulkas, vortex, mini Laminar Air Flow, waterbath, spektrofotometer Uv-Vis. Bahan yang digunakan yaitu serum, kit isolasi DNA (Geneaid), master mix (Geneaid), Gel Red (Biorad), gel agarose, buffer TAE 1X, primer *E6*, etidiumbromide, DNA marker, water freenuclease dan Proteinase-K.

Metode penelitian yang digunakan adalah metode PCR dengan melalui tiga tahapan penting dalam proses PCR, yaitu tahap denaturasi, annealing (penempelan primer) dan extension (pemanjangan primer).

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah penelitian deskriptif dengan menggunakan metode kualitatif, yaitu dengan melihat gen *E6* yang ada pada serum ibu hamil dengan riwayat keguguran. Metode penelitian yaitu metode *Polymeration Chain Reaction* (PCR).

HASIL

1. Kriteria Responden Berdasarkan Umur

Kriteria responden berdasarkan umur dapat dilihat pada Tabel 1 dibawah ini.

Tabel 1. Distribusi frekuensi responden berdsarkan umur di Puskesmas Puuwatu

No.	Umur	Kategori	Jumlah	Presentase (%)
1.	17-25 tahun	Remaja akhir	2	15
2.	26-35 tahun	Dewasa awal	6	46
3.	36-46 tahun	Dewasa akhir	5	38
4.	Total		13	100

(Sumber Data Primer, 2024)

Berdasarkan tabel diatas menunjukkan bahwa responden pada penelitian ini lebih banyak pada usia 26-35 tahun dengan presentase 46% memiliki riwayat keguguran.

2. Kriteria Responden Berdasarkan Riwayat Keguguran

Kriteria responden berdasarkan jenis kelamin dapat dilihat pada Tabel 2 di bawah ini.

Tabel 2. Distribusi frekuensi responden berdasarkan riwayat keguguran di Puskesmas Puuwatu

No.	Riwayat keguguran	Jumlah	Presentase (%)
1.	1 kali	6 orang	46
2.	2 kali	4 orang	31
3.	3 kali	2 orang	15
4.	4 kali	1 orang	8

(Sumber Data Primer, 2024)

Berdasarkan tabel diatas menunjukkan responden yang memiliki riwayat keguguran paling banyak 4 kali dengan presentase 8% berjumlah 1 orang.

3. Hasil Pengukuran Kualitas dan Kuantitas DNA

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah sampel serum pada ibu hamil memiliki riwayat keguguran. Untuk mengetahui konsentrasi dan kemurnian DNA dapat dilakukan dengan menggunakan alat spektrofotometer. Hasil pengukuran DNA yang diperoleh dapat dilihat pada tabel berikut ini :

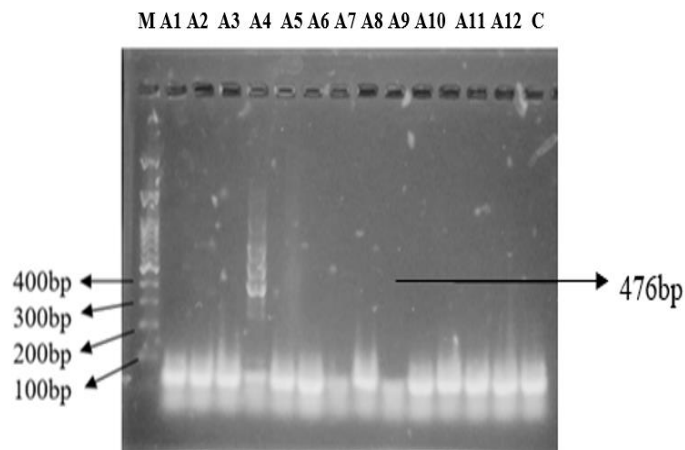
Tabel 3. Hasil pengukuran konsentrasi DNA menggunakan alat spektrofotometer

No	Sampel	Absorbansi λ 260 nm	Absorbansi λ 280 nm	Ratio (λ 260 nm/ λ 280 nm)	Konsentrasi DNA (μ g/ml)
1.	A1	4,300	3,854	1,130	120,3
2.	A2	4,524	5,003	0,893	93,22
3.	A3	4,526	4,355	1,044	116,7
4.	A4	0,102	0,089	1,842	1,263
5.	A5	0,097	0,086	1,716	1,117
6.	A6	0,097	0,086	1,703	1,102
7.	A7	0,096	0,085	1,735	1,102
8.	A8	0,096	0,084	1,730	1,122
9.	A9	0,096	0,084	1,751	1,102
10.	A10	0,094	0,083	1,733	1,100
11.	A11	0,095	0,084	1,711	1,093
12.	A12	0,094	0,084	1,702	1,093
13.	A13	0,093	0,085	1,632	0,974
14.	C	0,093	0,083	1,692	1,024

(Sumber Data Primer 2024)

4. Hasil Visualisasi DNA Gen E6 Pada Serum Ibu Hamil Yang Memiliki Riwayat Keguguran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, diperoleh hasil visualisasi DNA terhadap gen *E6* pada ibu hamil dengan riwayat keguguran, dapat jelaskan pada gambar berikut :



Gambar 1. Hasil visualisasi gen *E6* (A1-A13)

Berdasarkan hasil elektroforesis gambar diatas menunjukkan bahwa dari 13 sampel serum ibu hamil yang memiliki riwayat keguguran terdapat 1 sampel yang dinyatakan positif mengandung gen *E6* sebagai penanda infeksi HPV dengan besar target pita DNA 476 bp.

DISKUSI

Penelitian ini dilakukan pada bulan Juni-Juli 2024 di Laboratorium Diagnostik Molekular Prodi D-IV Teknologi Laboratorium Medis Universitas Mandala Waluya. Penelitian ini menggunakan sampel serum pada ibu hamil dengan riwayat keguguran. Total sampel yang digunakan terdiri dari 14 sampel, 13 diantaranya sampel serum ibu hamil dengan riwayat keguguran dan 1 sampel serum ibu hamil yang tidak memiliki riwayat keguguran. Pemeriksaan dengan metode PCR bertujuan untuk mendeteksi adanya gen *E6* yang ada pada *Human Papiloma Virus*.

Human Papiloma Virus merupakan virus berukuran kecil (55nm) yang tidak memiliki kapsul dan mengandung materi genetik berupa deoxyribonucleic acid (DNA), infeksi *Human Papiloma Virus* (HPV) merupakan penyebab timbulnya kanker serviks (Trianto dan Anny, 2021). Kanker serviks adalah kanker yang terjadi pada uterus suatu daerah organ reproduksi wanita yang merupakan pintu masuk kearah rahim yang terletak antara rahim (uterus) dengan liang senggam (vagina)

(Mardinah, 2017). Riwayat keguguran

Tabel 1 yang menunjukkan bahwa responden berdasarkan umur pasien dari 13 sampel yang terbanyak yaitu usia remaja akhir (17-25 tahun) sebanyak 5 responden dengan presentase 38% yang menderita TB. Hal ini sejalan dengan penelitian Datulog, dkk., (2015) yang menggambarkan bahwa kelompok usia produktif mempunyai mobilitas yang sangat tinggi sehingga kemungkinan terpapar dengan kuman *Mycobacterium tuberculosis* lebih besar. Selain itu reaktifan endogen (kembali aktif yang telah ada dalam tubuh) dapat terjadi pada usia yang sudah tua.

Penelitian ini dilakukan untuk mendeteksi keberadaan gen *E6* pada *Human Papiloma Virus* (HPV) penyebab kanker serviks. Untuk mendeteksi keberadaan gen *E6* pada sampel serum ibu hamil dengan riwayat keguguran dilakukan pemeriksaan menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Proses identifikasi gen *E6* dengan metode PCR dilakukan terlebih dulu proses isoalsi DNA yang bertujuan memisahkan DNA dari partikel lainnya seperti lipid, protein, polisakarida, dan zat lainnya. Prinsip isolasi DNA adalah mendapatkan DNA murni yang tidak tercampur dengan komponen sel lainnya seperti protein dan karbohidrat, isolasi DNA genom dapat dilakukan dengan metode lisis sel secara fisik dan kimia (Murtiyaningsih, 2017).

Pada Tabel 1 menunjukkan bahwa responden pada penelitian ini lebih banyak pada usia 26-35 tahun dengan presentase 46% memiliki riwayat keguguran. Hal ini sejalan dengan penelitian Mardianti (2019), pada ibu hamil yang berumur kurang dari 20 tahun organ reproduksinya belum matang sempurna sehingga kurang siap jika terjadi kehamilan, selain itu faktor psikologis yang belum siap untuk mejadi ibu juga memungkinkan menyebabkan terjadinya abortus. Sedangkan pada ibu hamil yang berusia lebih dari 35 tahun fungsi organ reproduksinya menurun sehingga jika terjadi kehamilan akan mengalami berbagai kompilkasi (Mardianti, 2019).

Berdasarkan hasil PCR menunjukkan bahwa 1 sampel yang positif terbentuknya pita berukuran 476bp pada sampel dengan kode A4 dengan usia ibu hamil yaitu 44 tahun dan memiliki riwayat keguguran 4 kali. Hal ini merupakan salah satu faktor resiko infeksi *Human Papiloma Virus* (HPV). Bertambahnya usia diiringi dengan penurunan kinerja organ-organ dan kekebalan tubuh, maka tubuh

akan mudah terserang berbagai infeksi. Ibu hamil tersebut pernah mengalami keguguran berulang 4 kali, keguguran berulang ini dapat menimbulkan resiko terjadinya kanker serviks.

Hasil positif menunjukkan bahwa beberapa faktor resiko yang dapat memicu munculnya penyakit kanker serviks. Faktor yang paling penting dari kanker serviks adalah infeksi *Human Papiloma Virus* (HPV). Disamping itu, faktor usia, jumlah anak, penggunaan alat kontrasepsi, dan riwayat keguguran juga merupakan salah satu faktor terjadinya kanker serviks. Gen *E6* yang digunakan pada penelitian ini merupakan gen yang sangat dibutuhkan oleh HPV untuk bertahan hidup, selain itu gen ini merupakan gen yang memiliki kemungkinan mengalami mutasi. Onkogen *E6* berperan dalam mengganggu siklus sel melalui inaktivasi tumor suppresor protein, yaitu p53. p53 adalah protein penekan tumor yang berfungsi untuk mengatur pertumbuhan dan pembelahan sel, serta dapat memfasilitasi replikasi virus. Pemeriksaan dengan menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) memiliki akurasi yang tinggi dan dapat menentukan sampai pada tingkat gen.

Berdasarkan hasil elektroforesis yang dilakukan dari 13 sampel ibu hamil dengan riwayat keguguran, 1 sampel yang dinyatakan positif mengandung gen *E6* terbentuk pita 476 bp dan 12 sampel negatif dengan pita DNA non spesifik yang merupakan amplifikasi DNA non-target PCR .

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa dari 13 ibu hamil yang memiliki riwayat keguguran yang dideteksi gen *E6*, terdapat 1 sampel yang positif terdeteksi gen *E6* dengan panjang pita DNA target 476 bp.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih kepada pihak Dinas Kesehatan Kota Kendari dan Puskesmas Puuwatu yang telah memberikan izin untuk pengambilan data dan sampel serta terima kasih pula kepada prodi D4 Teknologi Laboratorium Medik dan Lembaga Penelitian Dan Pengabdian Kepada Masyarakat (LPPM) Universitas Mandala Waluya Kendari.

KONFLIK KEPENTINGAN

Pada penelitian ini tidak ada konflik kepentingan dengan instansi/perorangan manapun.

REFERENSI

- Chun, F.Y., Wang, S.Y., Zhang, Y., & Huang, Y.C. (2020). Genome Wide Profiling Of Human Papiloma Virus DNA Intergration Into Human Genome And ITS Influence On PD-L1 Experession In Chinese Uygur Cervical Cancer Women. *Journal Of Immunology Research*.
- Georgescu, R.S., Cristina, J.M., Madalina, I., Maria, I., Clara, M., & Ilinca, N. (2018). New Insinghts In The Pathogenesis Of HPV Infection and The Associated Carcinogenic Processes The Role Of Chonic Infammation and Oxidative Stress. *Journal Of Immunologi Research*, 3(1), 2-10.
- Heyrani, Fannie. E., Hasan., & Rosnah. (2023). Penggunaan Buku Saku Tentang Perilaku dan Pola Makan Beresiko Kanker Payudara Terhadap Pengetahuan dan Sikap Remaja Putri. *Jurnal Menara Medika*, 6(1), 28-37.
- Kemenkes RI. (2024). Profil Kesehatan Indonesia. *Jakarta : Kementerian Kesehatan Republik Indonesia*.
- Kota Kendari. (2023). Profil Kesehatan Sulawesi Tenggara Tahun 2023. *Kendari : Dinas Kesehatan Provinsi Sulawesi Tenggara*.
- Lipinwati. (2014). Diagnosis Molekuler Human Papilloma Virus (HPV) Penyebab Kanker Serviks. *Jurnal Medical Junior*, 2(1), 78-86.
- Madiyahanti, A.D., & Siti, K. (2016). Hubungan Dukungan Keluarga Dengan Pengobatan Kanker Serviks. *Jurnal Kesehatan Ilmiah*, 5 (9), 584-598.
- Murtiyahningsih, H. (2017). Isolasi DNA Genom dan Identifikasi Kekerabatan Genetik Nanas Menggunakan RAPD (Random Amplified Polimorfic DNA). *Jurnal Agrotrop*, 15(1), 85-93.
- Pranani, D.A., Made, A.H., & Komang, J.P.P. (2019). Optimasi Deteksi Gen E6 Pada Human Papilloma Virus Risiko Tinggi Dengan Polymerase Chain Reaction. *Jurnal Medika Udayana*. 8(11), 2597-8012.
- Purwaningrum, D.A., & Arulita, I.F. (2017). Faktor Resiko Kejadian Abortus Spontan. *Higie Journal Of Public Health Research and Development*, 1(3), 84-94.

-
- Puskemas Puuwatu. (2024). Data Ibu Hamil Yang Memiliki Riwayat Keguguran 2023.
- Setianingsih, E., Yuli, A., & Noveri, A. (2022). Literature Review : Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Terjadinya Kanker Serviks. *Jurnal Ilmiah Pannmed*, 17(1), 47-54.
- Simangunsong, A., Batara, S., & Hendrika, S. (2019). Karakteristik Penderita Kanker Serviks. *Jurnal Kedokteran Methodist*, 12(2), 24-31.
- Trianto, F.H., & Anny Setijo Rahaju. (2021). Patogenesis Infeksi Human Papiloma Virus Sebagai Dasar Dalam Pengembangan Pencegahan dan Terapi Baru Pada Kanker Serviks. *Majalah kesehatan*, 8(3), 171-181.