

# BAB 1

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Gen *Bcl-2* merupakan gen yang bertugas untuk melakukan regulasi apoptosis. Apoptosis adalah suatu mekanisme kematian sel yang sudah terprogram. Mekanisme apoptosis memiliki peranan penting dalam proses biologis. Beberapa hal dapat menyebabkan apoptosis pada sel, seperti senyawa toksik. Mekanisme terjadinya apoptosis dapat dipengaruhi oleh sel itu sendiri ataupun jaringan disekitarnya yang memberikan sinyal untuk terjadinya apoptosis sel. Sinyal yang menginduksi sel untuk apoptosis dapat berasal dari intraseluler berupa hormon atau dari sinyal ekstraseluler seperti sinar radiasi yang dapat menyebabkan kerusakan sel karena radikal bebas. Regulasi apoptosis sel yang tidak sempurna dapat menyebabkan pembelahan sel yang tidak terkontrol serta timbulnya beberapa penyakit seperti penyakit autoimun dan neurodegeneratif. Sudah banyak studi untuk kejadian penyakit seperti penyakit autoimun, limfoma, kanker dan neurodegeneratif menggunakan gen *Bcl-2*.

Kanker leher rahim atau kanker serviks adalah salah satu penyakit kanker karena infeksi oleh *Human PapillomaVirus (HPV)*. Tipe *Human PapillomaVirus* penyebab sebagian besar kejadian kanker serviks adalah HPV tipe 16 dan tipe 18. Kanker serviks merupakan kanker yang paling sering terjadi pada wanita di seluruh dunia. Kejadian kanker serviks di Indonesia terus meningkat dan mayoritas penyintas kanker baru terdeteksi pada stadium lanjut. Masih belum banyak diketahui gejala dan ciri-cirinya, sehingga terlambat diberikan pengobatan yang menyebabkan tingkat kematian pasien penyintas kanker serviks sangat tinggi. Hal tersebut dapat dicegah dan terdeteksi lebih awal jika wanita mendapatkan vaksin HPV dan melakukan deteksi dini.

Analisa histologi untuk diagnosis menggunakan sampel biopsi selama ini belum memadai karena tingkat tingginya frekuensi penyakit yang berulang sehingga perlu dikembangkan pengetahuan biologi molekuler yang berkembang untuk mendiagnosis penyakit yang disebabkan perkembangan sel kanker untuk memudahkan biomarker

deteksi dini dan indikator klinis terhadap target terapi yang tepat untuk dilakukan pada gen atau protein t

*Polymerase Chain Reaction* (PCR) merupakan teknik amplifikasi DNA dengan target gen tertentu. PCR adalah suatu proses enzimatik yang dilakukan secara *in vitro* untuk mengamplifikasi atau memperbanyak DNA dan setiap jumlah nukleotida yang diamplifikasi menjadi dua kali lipat dengan pengulangan 25-30 siklus. PCR merupakan teknik yang sering digunakan dalam laboratorium biologi molekuler untuk identifikasi penyakit genetik, infeksi virus, untuk mendiagnosis suatu penyakit, identifikasi dibidang forensik, aplikasi pada Biodiversitas, dan deteksi mutasi gen pada sel ataupun jaringan dengan mengukur ekspresi gen secara kuantitatif. Siklus pada proses PCR meliputi proses awal denaturasi yaitu pemisahan untai ganda DNA, *annealing* yaitu pengenalan primer pada DNA target yang akan diamplifikasi dan elongasi atau pemanjangan untai DNA target. Komponen yang terdapat pada PCR yaitu DNA cetakan, primer oligonukleotida, DNA polimerase, dan beberapa komponen pendukung lainnya seperti buffer untuk PCR. Hasil dari produk PCR dapat diidentifikasi menggunakan elektroforesis gel untuk mengetahui ukuran DNA. Teknik PCR banyak digunakan untuk mendeteksi penyakit yang disebabkan oleh virus yang menyerang manusia maupun hewan dalam penelitian biologi molekuler.

Mendeteksi penyakit dengan menggunakan gen *Bcl-2*, validasi sampel biopsi jaringan serviks dari pasien yang mengalami keabnormalan serviks, dengan teknik PCR menggunakan tiga jenis primer yang spesifik mengenali gen *Bcl-2* agar dapat memudahkan diagnosa penyakit dengan teknik PCR yang sensitif dan spesifik.

Optimasi PCR perlu dilakukan untuk mendapatkan produk PCR yang memiliki kualitas yang baik sehingga dapat digunakan untuk analisa selanjutnya. Proses optimasi dapat dilakukan dengan cara memvariasikan penggunaan kondisi pada proses PCR karena optimasi kondisi berkaitan dengan faktor-faktor seperti jenis DNA polimerase, suhu penempelan primer (*annealing*), konsentrasi primer dan reagen PCR yang digunakan. Banyak faktor yang mempengaruhi keberhasilan PCR. Salah satu berhasil atau tidaknya reaksi PCR adalah ada tidaknya primer oligonukleotida yang menempel pada templat atau DNA target sehingga teramplifikasi. Penelitian optimasi reaksi *in-house* PCR ini dilakukan untuk mendapatkan parameter yang tepat dalam mendapatkan kualitas produk PCR yang baik dan mendapatkan kondisi optimal.

## 1.2 Rumusan Masalah

Rumusan Masalah pada penelitian ini adalah:

- 1) Berapakah suhu *annealing* optimal primer *Bcl-2* yang digunakan dalam reaksi PCR?
- 2) Berapakah konsentrasi primer *Bcl-2* yang optimal digunakan dalam reaksi PCR?
- 3) Apakah kombinasi primer yang dipilih dalam reaksi PCR spesifik terhadap penggandaan gen *Bcl-2* ?

## 1.3 Tujuan Dan Manfaat Penelitian

### a. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

- 1) Mendapatkan reaksi PCR yang optimal untuk penggandaan gen *Bcl-2*.
- 2) Mendapatkan konsentrasi primer yang optimal pada reaksi PCR untuk penggandaan gen *Bcl-2*.
- 3) Mendapatkan kombinasi primer yang optimal untuk reaksi PCR terhadap penggandaan gen *Bcl-2*.

### b. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah menghasilkan reaksi PCR yang sensitif, spesifik, dan produk PCR dapat digunakan untuk analisa lanjutan penyakit yang ditandai dengan keabnormalan pada gen *Bcl-2*.