

BAB 1

PENDAHULUAN

1 Latar Belakang Masalah

Gen BCL-2 (*B-cell lymphoma 2*) merupakan gen yang mengatur atau meregulasi proses apoptosis dengan cara menghambat proses apoptosis sel. Apoptosis merupakan kematian sel yang terprogram, mempunyai peran penting dalam mengeliminasi sel yang tidak diperlukan oleh organisme multiseluler. Regulasi apoptosis sel yang tidak sempurna dapat menyebabkan timbulnya beberapa penyakit salah satunya adalah kanker. Ekspresi protein Bcl-2 yang dikode oleh gen BCL-2 terlihat lebih tinggi pada pasien kanker dibandingkan orang normal pada beberapa studi, salah satunya penelitian Moon J, Sohn S, Lee M, Jang J. Pada tahun 2009. Ekspresi Bcl-2 meningkat dapat membantu transformasi onkogenik, sehingga akan menjelaskan pertumbuhan tumor yang tak terbenyung, dan resistensi terhadap terapi. (Campbell and Tait 2018).

PCR (*Polymerase Chain Reaction*) merupakan teknik enzimatik yang dilakukan secara *in vitro* untuk mengamplifikasi DNA dengan target gen tertentu. PCR telah mengalami perkembangan metode, seperti *Real-Time PCR*, *Multiplex PCR* dan *Nested PCR*. Pada metode *Real-Time PCR* (RT-PCR), hasil amplifikasi DNA didapatkan secara langsung (*real time*) tanpa analisa elektroforesis. Metode RT-PCR dapat digunakan untuk mengukur tingkat ekspresi suatu gen tertentu. *One-Step* RT-PCR dilakukan dengan menggabungkan proses transkripsi balik sampel RNA menjadi cDNA dan amplifikasi untai ganda DNA dalam satu tabung. Optimasi metode *one-step* RT-PCR perlu dilakukan untuk menghasilkan reaksi yang optimal dalam pengandaan DNA/gen.

Tingkat laju transkripsi gen BCL-2 dapat diukur dengan metode *one-step* RT-PCR yang hasilnya dapat menggambarkan proses ekspresi protein Bcl2 dalam regulasi apoptosis sel. Namun demikian, proses optimasi reaksi ini tetap perlu dilakukan untuk mendapatkan hasil yang valid, sensitive dan spesifik. Penelitian ini dilakukan untuk mengkarakterisasi primer gen BCL-2 yang merupakan bagian optimasi reaksi *one-step* RT-PCR. Hasil penelitian diharapkan dapat digunakan dalam pengembangan metode *one-step* RT-PCR dalam pengukuran laju transkripsi gen BCL-2.

2 Perumusan Masalah

Bagaimana karakter primer gen BCL-2 yang telah didesain untuk reaksi *one-step* RT-PCR.

3 Tujuan Dan Manfaat Penelitian

a. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

- 1) Mendapatkan karakter primer gen BCL-2 untuk reaksi *one-step* RT-PCR.
- 2) Mendapatkan reaksi *one-step* Real-Time PCR yang optimal untuk deteksi gen BCL-2
- 3) Mendapatkan konsentrasi *template* (cetakan) RNA yang optimal untuk reaksi *one-step* Real-Time PCR deteksi gen BCL-2.

b. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah menghasilkan reaksi *One Step* Real-Time PCR yang sensitif, spesifik dan efisien untuk melihat laju transkripsi gen BCL-2.