

**Prevalensi Infeksi *Human papillomavirus* (HPV) pada
wanita dengan kelainan ginekologi di Makassar**

***Prevalence of Human papillomavirus Infection on Women
with Gynecological Problems in Makassar***



**NURUL AZMAH NIKMATULLAH
P1506212402**

**PROGRAM PASCA SARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2015**

TESIS

PREVALENSI INFEKSI *Human papillomavirus* PADA WANITA DENGAN KELAINAN GINEKOLOGI DI MAKASSAR

Disusun dan diajukan oleh

NURUL AZMAH NIKMATULLAH
Nomor Pokok P1506212402

telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Tesis

pada tanggal 28 Agustus 2015

dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui

Komisi Penasehat,

Dr. dr. Siti Maisuri T. Chalid, Sp. OG (K)
Ketua

Prof. dr. Muh. Nasrum Massi, Ph.D.
Anggota

Ketua Program Studi
Ilmu Biomedik,

Dr. dr. A. Mardiah Tahir, Sp. OG (K)

Direktur Program Pascasarjana
Universitas Hasanuddin,



Prof. Dr. Syamsul Bachri, S.H, M.S.

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan di bawah ini

Nama : Nurul Azmah Nikmatullah

Nomor Induk Mahasiswa : P1506212402

Program studi/Konsentrasi : Biomedik/Mikrobiologi

Menyadari dengan sebenarnya bahwa tesis yang saya tulis ini benar – benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan tesis ini hasil jiplakan , maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 28 Agustus 2015

Yang menyatakan,



Nurul Azmah Nikmatullah

PRAKATA

Segala puji dan syukur kepada Allah SWT, Tuhan yang maha pengasih lagi maha penyayang yang telah memberi rahmatNya berupa akal, pikiran, ide dan kesehatan kepada penulis, hingga penulis bisa menyusun dan menyelesaikan tesis ini yang berjudul PREVALENSI INFEKSI *Human papillomavirus* PADA WANITA DENGAN KELAINAN GINEKOLOGI DI MAKASSAR sebagai salah satu syarat untuk mendapatkan gelar Magister di Program Studi Biomedik Mikrobiologi Pasca Sarjana Universitas Hasanuddin Makassar.

Dengan penuh rasa hormat penulis menyampaikan banyak terima kasih kepada Dr. dr. Siti Maisuri T.Chalid, Sp.OG (K) selaku ketua komisi penasehat atas waktunya untuk membimbing dan mengarahkan penulis dan kepada Prof. Dr. Muh Nasrum Massi, Ph.D selaku anggota komisi penasehat atas waktunya untuk membimbing dan mengarahkan penulis. Terima kasih pula penulis sampaikan kepada Prof. Ahyar Ahmad, Ph.D, dan Dr. Rosana Agus, M.Si selaku komoisi penguji atas arahan dan juga masukannya yang sangat membantu dalam penulisan ini, serta kepada Dr.dr. Rizalinda, M.Sc, Ph.D. selaku komoisi penguji sekaligus sebagai Ketua Konsentrasi Mikrobiologi Program Studi Biomedik Pasca Sarjana Univeritas Hasanuddin atas arahan dan juga masukannya yang sangat membantu dalam penulisan ini. Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada staf dosen Biomedik Mikrobiologi atas segala ilmu yang telah diberikan kepada penulis dan kepada Dr. Andi Yasmon terima

kasih atas waktu, bimbingan dan motivasi untuk senantiasa berbagi pengalaman yang dapat membantu penulis dalam penelitian ini.

Terkhusus untuk kedua orang tua Ayah Yusuf dan Ibunda Kasmirah tersayang, saudara ,keluarga, penulis mengucapkan banyak terima kasih atas segala dukungannya, kasih sayang , perhatian dan semangat serta doa restu yang tulus setiap saat.

Terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Anggun, teman – teman GF crew, teman – teman seperjuangan ”MIKROBIOLOGI 2012” yang senantiasa memberikan motivasi dan senantiasa berbagi pengalaman yang dapat memperluas wawasan penulis.

Harapan penulis semoga tesis ini dapat bermanfaat terutama bagi pengembangan ilmu pengetahuan kepada berbagai pihak. Akhir kata penulis ucapkan rasa syukur kepada Allah SWT semoga dengan rahmatNya maka kita semua diberi berkat dan perlindunganNya, Amin. Terima Kasih dan Wassalam.

ABSTRAK

NURUL AZMAH NIKMATULLAH, *Prevalensi Infeksi Human papillomavirus (HPV) pada Wanita dengan Kelainan Ginekologi di Makassar* (dibimbing oleh Siti Maisuri T. Chaiid dan Muh. Nasrum Massi)

Penelitian ini bertujuan melihat prevalensi kanker ginekologi dan infeksi HPV pada pasien, serta faktor yang berhubungan dengan kejadian kanker ginekologi.

Penelitian ini menggunakan desain *cross-sectional* dengan sampel sebanyak 143 orang. Sampel yang diperoleh diekstraksi dengan menggunakan Qiagen dan Tiagen. DNA yang diperoleh dilanjutkan ke tahap Identifikasi *Human papillomavirus*. Tahap ini dimulai dengan mendeteksi β – globin gen dan HPV menggunakan metode PCR. Sampel yang positif HPV dilanjutkan ke metode *Linear array genotyping test* dan PRELIB untuk *genotyping* HPV.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa prevalensi kanker ginekologi pada penelitian ini yaitu 32.2% dan prevalensi infeksi HPV yaitu 26,6%. Berdasarkan analisis *chi-square* menunjukkan bahwa ada hubungan yang signifikan antara umur (p -value = 0,0001), jumlah anak (p -value = 0,0001), pekerjaan (p -value = 0,004), dan infeksi HPV (p -value = 0,0001) dengan kejadian kanker ginekologi (nilai p -value < 0,005).

Kata kunci: Kanker ginekologi, PCR, Genotyping HPV



ABSTRACT

NURUL AZMAH NIKMATULLAH. *Prevalence of Human papillomavirus (HPV) Infection on Women with Gynecological Anomaly in Makassar* (supervised by Siti Maisuri T. Chalid and Muh. Nasrum Massi).

The research aimed to perceive the prevalence of the gynecological cancer and HPV infection on the patients, and the factor related to the gynecological cancer incident.

The research used the cross sectional design with as many as 143 samples. The samples obtained were extracted using the Qiagen and Tiagen. DNA obtained was continued to the identification stage of *Human papillomavirus*, the stage started by detecting β – globin gene and HPV using PCR method. The positive samples of HPV were continued to the *Linear array genotyping test* method and PRELIB for the *genotyping* HPV.

The research result indicates that the prevalence of the gynecological cancer in the research is 32.2% and the prevalence of HPV infection is 26.6%. The Chi-square analysis indicates that there is the significant relationship between the age (p-value = 0,0001), number of children (p-value = 0,0001), occupation (p-value = 0,004), and HPV infection (p-value = 0,0001) and the gynecological cancer (p-value < 0.005).

Key-words: Gynecological cancer, PCRHPV genotyping.



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PENGESAHAN.....	i
HALAMAN PERNYATAAN	ii
PRAKATA	iii
ABSTRAK	v
ABSTRACT.....	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah.....	6
C. Tujuan Penelitian	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	8
A. Tinjauan Khusus Kanker Serviks	8
1. Definisi.....	8
2. Epidemiologi.....	9
3. Etiologi dan Perjalanan Penyakit.....	10
4. Faktor Resiko	14
5. Patogenesis dan Patofisiologi	22

6. Klasifikasi dan <i>Staging</i>	26
7. Diagnosis.....	29
8. Pencegahan	31
B. Tinjauan Khusus <i>Human papillomavirus</i>	33
1. Definisi.....	34
2. Biologi HPV	36
3. Patogenesis.....	45
C. Tinjauan Khusus Pemeriksaan Laboratorium	47
1. PCR (<i>Polymerase Chain Reaction</i>)	47
a. Definisi	47
b. Prinsip Umum PCR	48
c. Komponen Utama PCR.....	49
2. <i>Linear Array Genotyping Test</i>	52
D. Kerangka Teori	55
E. Hipotesis.....	56
F. Kerangka Konsep	57
G. Definisi Operasional.....	58
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	61
A. Desain penelitian	61
B. Waktu dan lokasi penelitian	61
1. Waktu dan tempat penelitian	61
2. Alat dan bahan penelitian	61
C. Populasi dan Sampel	64

1. Populasi penelitian.....	64
2. Sampel penelitian	64
3. Kriteria sampel.....	64
D. Prosedur Kerja	65
1. Penanganan sampel.....	65
a. Pengambilan sampel.....	65
b. Penyimpanan sampel.....	65
2. Deteksi <i>Human Papilloma Virus</i>	66
a. Ekstraksi DNA dengan Tiagen DNA mini kit.....	66
b. Ekstraksi DNA dengan Qiagen DNA mini kit	67
c. Amplifikasi DNA untuk mendeteksi β -globin gen	69
d. Amplifikasi DNA untuk mendeteksi HPV (L1) gen	69
e. Elektroforesis gel dengan agarose 1,5%.....	70
f. Elektroforesis gel dengan polyacrilamid 9%.....	71
3. <i>Genotyping Human Papillomavirus</i>	72
a. <i>Linear array genotyping test</i>	72
1. Amplifikasi DNA	72
2. Pembuatan buffer	72
3. Hibridisasi	74
b. PCR dan <i>reverse line blot</i> (PRELIB)	75
1. Amplifikasi DNA	75
2. Elektroforesis gel dengan agarose 1,5%.....	75
3. Pembuatan buffer	77

4. Pembuatan membran.....	77
5. Hibridisasi <i>reverse line blot</i>	78
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	81
A. Hasil penelitian.....	81
1. Gambaran data penelitian.....	81
2. Gambaran Hasil Deteksi <i>Human papillomavirus</i>	82
a. Hasil PCR β – globin gen	82
b. Hasil PCR HPV (L1) gen	82
3. Gambaran hasil <i>Genotyping Human papillomavirus</i>	83
a. <i>Linear array genotyping test</i>	83
b. PRELIB (PCR dan <i>reverse line blot</i>)	86
1. Hasil PCR	86
2. Hasil hibridisasi <i>reverse line blot</i>	87
4. Analisis Univariat	88
5. Analisis Bivariat	89
a. Hubungan antara umur dengan kanker ginekologi.....	90
b. Hubungan antara paritas dengan kanker ginekologi	90
c. Hubungan antara pekerjaan dengan kanker ginekologi	91
d. Hubungan antara infeksi HPV dengan kanker ginekologi	91
B. Pembahasan.....	92
1. Hubungan umur dengan kanker ginekologi	94
2. Hubungan jumlah paritas dengan kanker ginekologi	95
3. Hubungan pekerjaan dengan kanker ginekologi.....	95

4. Hubungan infeksi HPV dengan kanker ginekologi.....	97
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	99
A. Kesimpulan	99
B. Saran	99
DAFTAR PUSTAKA.....	100
LAMPIRAN	108

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Klasifikasi lesi prakanker.....	26
Tabel 2. Klasifikasi histologik kanker serviks	27
Tabel 3. Sistem stadium kanker.....	28
Tabel 4. Fungsi protein pada struktur gen HPV	37
Tabel 5. Sekuen primer dan probe	62
Tabel 4.1. Hasil <i>genotyping linear array</i>	84
Tabel 4.2. Gambaran Karakteristik dasar pasien berdasarkan kanker ginekologi.....	88
Tabel 4.3 Gambaran kejadian kanker ginekologi.....	89
Tabel 4.4 Analisis bivariat hubungan variabel independen dengan variabel dependen	89

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Invasif kanker.....	8
Gambar 2. Siklus sel.....	13
Gambar 3. Kontrol checkpoint pada siklus sel	13
Gambar 4. Patogenesis karsinoma serviks.....	14
Gambar 5. Perubahan sel epitel serviks yang menyebabkan kanker pada infeksi HPV	25
Gambar 6. Perjalanan penyakit kanker serviks.....	25
Gambar 7. <i>Human papillomavirus</i>	33
Gambar 8. Tipe HPV.....	35
Gambar 9. Skema genom HPV berbentuk sirkuler	37
Gambar 10. Patogenesis HPV onkogenik.....	40
Gambar 11. <i>E6 dependent modulation of cell cycle</i>	42
Gambar 12. A. Virus masuk ke sel epidermis	47
Gambar 12. B. Virus keluar dari sel epidermis.....	47
Gambar 13. Cara pengambilan swab serviks	65

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Alur kerja penelitian	108
Lampiran 2. Hasil blast β – globin gen.....	109
Lampiran 3. Hasil blast HPV (L1) gen.....	110
Lampiran 4. Hasil blast HPV 16 yang digunakan pada metode PRELIB	111
Lampiran 5. Hasil blast HPV 18 yang digunakan pada metode PRELIB	112
Lampiran 6. Hasil blast HPV 31 yang digunakan pada metode PRELIB	113
Lampiran 7. Hasil blast HPV 33 yang digunakan pada metode PRELIB	114
Lampiran 8. Hasil blast HPV 35 yang digunakan pada metode PRELIB	115
Lampiran 9. Hasil blast HPV 39 yang digunakan pada metode PRELIB	116
Lampiran 10. Hasil blast HPV 45 yang digunakan pada metode PRELIB	117
Lampiran 11. Hasil blast HPV 51 yang digunakan pada metode PRELIB	118
Lampiran 12. Hasil blast HPV 52 yang digunakan pada	

metode PRELIB	119
Lampiran 13. Hasil blast HPV 56 yang digunakan pada metode PRELIB	120
Lampiran 14. Hasil blast HPV 58 yang digunakan pada metode PRELIB	121
Lampiran 15. Hasil blast HPV 59 yang digunakan pada metode PRELIB	122
Lampiran 16. Hasil blast HPV 66 yang digunakan pada metode PRELIB	123
Lampiran 17. Hasil blast HPV 68 yang digunakan pada metode PRELIB	124
Lampiran 18. Hasil blast β – globin yang digunakan pada metode PRELIB	125
Lampiran 19. Hasil <i>Linear Array Genotyping Test</i>	126
Lampiran 20. Hasil olah data (SSPS)	127

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Human papillomavirus (HPV) genitalia adalah penyebab infeksi paling sering yang ditularkan melalui hubungan seksual (*sexually transmitted infection*) di dunia. Infeksi persisten HPV, khususnya HPV tipe high risk, dapat menimbulkan kanker serviks pada wanita dan kanker ginekologi lainnya (vulva, vagina, penis, dan anus), sedangkan infeksi HPV tipe low risk dapat menimbulkan kutil kelamin (*condyloma acuminatum*), baik pada wanita maupun pria. Manusia adalah reservoir utama bagi HPV dan setiap individu dapat terinfeksi oleh lebih dari satu tipe HPV (infeksi multipel). Lebih dari 100 genotipe HPV telah teridentifikasi, 40 di antaranya menginfeksi sistem genitalia. Tipe HPV genitalia digolongkan berdasarkan asosiasi epidemiologis dengan kanker serviks (Noviana, 2012; WHO, 2010; Woodman et al, 2007).

Infeksi HPV tipe *low risk* dapat menyebabkan perubahan sel – sel serviks yang bersifat *benign* atau *low-grade*, kutil kelamin, dan papillomatosis. HPV tipe *low risk* meliputi 6, 11, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, dan 81. Kutil kelamin yang sering disebut kondiloma akuminata adalah penyakit menular seksual yang disebabkan oleh Human Papilomavirus (HPV). Infeksi HPV dapat menyebar melalui kontak langsung atau auto inokulasi. Masa inkubasi bervariasi dari 1 – 12 bulan dengan rata-rata 2-3

bulan. Infeksi HPV pada genital diduga subklinis sampai 70%, dan tidak disadari oleh pasien tetapi terdeteksi dengan pemeriksaan klinis lengkap, histologis, dan sitologis atau analisis molekular. Kondiloma akuminata memiliki infektivitas yang tinggi, di mana permukaan mukosa yang lebih tipis akan lebih rentan terhadap inokulasi virus dibanding kulit yang memiliki keratin tebal (Eassa et al, 2011; Kautsky et al, 2008; Kilkenny et al, 1996; Yenny et al, 2013).

HPV tipe high risk bersifat karsinogenik, cenderung berkembang menjadi kanker serviks atau kanker ginekologi lain-nya. HPV tipe *high risk*, meliputi tipe 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 69, 73, dan 82, dapat menyebabkan abnormalitas *low-grade* hingga *high-grade* pada sel – sel serviks yang merupakan prekursor kanker. Kurang lebih 90% kasus kanker serviks disebabkan oleh infeksi HPV tipe *high risk*. Meskipun infeksi HPV tipe *high risk* dapat menyebabkan kanker serviks, mayoritas infeksi yang terjadi bersifat *self-limiting* (Noviana, 2012; WHO, 2010; Woodman et al, 2007).

Kanker serviks adalah tumbuhnya sel-sel abnormal pada jaringan leher rahim (serviks). Kanker serviks merupakan kanker primer yang berasal dari serviks (kanalis servikalis dan atau porsio). Kanker serviks merupakan jenis kanker penyebab kematian kedua terbanyak pada wanita di seluruh duniadengan insidens sebesar 25 – 40 per 100.000 wanita per tahun. (HPV Statistics; Noviana, 2012; Tambuanan et al, 2007; WHO, 2010).

Human papillomavirus (HPVs) adalah virus DNA famili *papillomaviridae*. HPV tidak mempunyai *envelope*, berdiameter 55 nm, mempunyai kapsid ikosahedral. Genom HPV berbentuk sirkuler dan panjangnya 8 kb, mempunyai 8 *open reading frames* (ORFs) dan dibagi menjadi *genearly* (E) dan *late* (L). Gen E mensintesis 6 protein E yaitu E1, E2, E4, E5, E6 dan E7, yang banyak terkait dalam proses replikasi virus dan onkogen, sedangkan gen L mensintesis 2 protein L yaitu L1 dan L2 yang terkait dengan pembentukan kapsid. Genotipe HPV ditentukan oleh adanya variasi genetik di protein kapsid L1 dan L2 sedangkan yang bersifat onkogenik adalah E6 dan E7. Protein E6 dan E7 sangat diperlukan untuk proses pembentukan kanker mulut rahim yaitu melalui interaksi dengan protein 53 (p53) dan retinoblastoma (pRb). Protein E6 mengikat p53 yang merupakan salah satu gen supresor tumor sehingga sel kehilangan kemampuan untuk mengadakan apoptosis, sementara itu protein E7 mengikat pRb sehingga sel kehilangan sistem kontrol untuk proses proliferasi sel itu sendiri. Aktivasi protein onkogenik pada HPV tipe *high risk* menyebabkan terjadinya perubahan epigenetik pada beberapa promotor *Tumor Suppressor Gene* (TSG) sehingga dapat menimbulkan kanker. Beberapa studi menunjukkan protein E6 dan E7 pada HPV tipe *low risk* memiliki afinitas yang rendah terhadap TSG dibandingkan tipe *high risk* sehingga HPV tipe *low risk* tidak berpotensi menimbulkan kanker. Protein E6 dan E7 pada HPV tipe *low risk* hanya

berfungsi untuk menjaga stabilitas genomnya (Andrijono, 2007; Burd, 2003; Conway, 2009; Haunsen z, 2002; Noviana, 2012).

Infeksi HPV penyebab kanker serviks dapat dideteksi secara dini menggunakan metode Papanicolaou (dikenal dengan sitologi Pap smear), baik sitologi konvensional maupun berbasis cairan. Metode pap smear memiliki sensitivitas 70 – 80% dan spesifisitas 90 – 95%. Namun kekurangan pada pap smear sering terjadi negatif palsu dan tidak dapat mendeteksi ada atau tidaknya HPV. Negatif palsu terjadi dikarenakan kegagalan dalam pengambilan usapan yang baik, pengambilan sel yang tidak cukup, sel abnormal sedikit, lokasi lesi tidak dapat dijangkau, lesi kecil, ada darah atau pembengkakan sel menyembunyikan sel abnormal. Oleh karena itu untuk mengatasi kelemahan dari pap smear perlu dilakukan pengembangan uji molekuler untuk diagnosis kanker serviks (Azis et al, 2005; Bolick et al, 1998; Hutchinson et al, 1992; Park et al, 2001).

Selain metode pap smear terdapat dua metode yang dapat digunakan yaitu metode non amplifikasi dan metode amplifikasi berbasis PCR. Metode non amplifikasi yaitu pemeriksaan Hybrid Capture II. Hybrid Capture System (HC-II) adalah metode pemeriksaan hibridisasi dengan teknologi terbaru di bidang biologi molekuler. Teknik HC-II memeriksa pada kondisi lebih awal yaitu kemungkinan seseorang terinfeksi HPV sebelum virus tersebut membuat perubahan pada serviks yang akhirnya dapat mengakibatkan terjadinya kanker serviks. HC-II telah diakui dunia

serta disahkan oleh FDA (*Food and Drug Administration*) Amerika Serikat HC-II memiliki keakuratan yang tinggi dalam mendeteksi infeksi HPV karena mampu mendeteksi keberadaan DNA HPV dalam jumlah yang sangat kecil (Castle et al, 2002; Novel et al, 2009). Metode amplifikasi PCR, metode ini hanya digunakan untuk mendeteksi ada atau tidaknya DNA HPV di dalam sel epitel yang dicurigai terinfeksi HPV, metode ini sulit untuk menentukan genotipe HPV yang menginfeksi dikarenakan proses *genotyping* dengan metode PCR dan elektroforesis memerlukan waktu yang cukup lama, serta membutuhkan banyak primer untuk masing – masing tipe HPV (Bartlett et al, 1999; Brown, 1995; NCCN, 2011; Nuswantara, 2007; Novel et al, 2009, 2011; Noviana, 2012; Yuwono, 2006).

Linear Array Genotyping test adalah salah satu teknik terbaru di dunia molekuler untuk mendeteksi HPV, yang merupakan kombinasi antara teknik PCR dan hibridisasi. Kelebihan teknik ini adalah dapat mendeteksi 37 genotipe HPV tipe *low* dan *high risk* yaitu 6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 40, 42, 45, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 58, 59, 61, 62, 64, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73 , 81, 82, 83, 84, IS39 and CP6108. PCR dan *reverse line blot* (PRELIB) adalah salah satu teknik yang mempunyai prinsip yang sama dengan linear array, akan tetapi hanya dapat mendeteksi 14 genotipe HPV tipe *high risk* yang menginfeksi dalam satu kali pemeriksaan. Ke-14 genotipe HPV yaitu HPV-16, HPV-18, HPV-31, HPV-33, HPV-35, HPV-39, HPV-45, HPV-51, HPV-52, HPV-56, HPV-58,

HPV-59, HPV-66, HPV-68. Prinsip metode ini yaitu probe – probe pendeteksi 14 tipe HPV diplotkan pada membran, kemudian membran direaksikan dengan produk PCR yang menggunakan primer konsesus (primer yang dapat mengamplifikasi semua genotype HPV) (Steinau et al, 2012; Van den et al, 2002).

Berdasarkan prevalensi infeksi HPV yang tinggi pada wanita dan banyaknya wanita yang terinfeksi tanpa gejala, maka peneliti berkeinginan untuk melakukan penelitian tentang prevalensi infeksi *human papillomavirus* penyebab kanker ginekologi serta melihat prevalensi kanker ginekologi dan hubungan antara usia, jumlah anak, pekerjaan dan infeksi HPV dengan kejadian kanker ginekologi pada wanita dengan kelainan ginekologi di Makassar.

B. Rumusan Masalah

Rumusan Masalah dalam penelitian ini adalah

1. Berapakah prevalensi kanker ginekologi pada wanita dengan kelainan ginekologi di Makassar?
2. Berapakah prevalensi infeksi HPV tipe high risk dan low risk pada wanita dengan kelainan ginekologi di Makassar?
3. Apakah terdapat hubungan antara usia, jumlah anak, pekerjaan dan infeksi HPV dengan kejadian kanker ginekologi?
4. HPV tipe berapa yang paling banyak menyebabkan kanker ginekologi pada wanita dengan kelainan ginekologi di Makassar?

5. Apakah HPV tipe *high riks* dapat diidentifikasi menggunakan teknik PRELIB ?

C. Tujuan Penelitian

1. Tujuan Umum

Untuk mengetahui prevalensi kanker ginekologi pada wanita dengan kelainan ginekologi di Makassar.

2. Tujuan Khusus

- a. Untuk mengetahui prevalensi infeksi HPV pada wanita dengan kelainan ginekologi di Makassar.
- b. Untuk mengetahui hubungan antara usia, jumlah anak, pekerjaan dan infeksi HPV dengan kejadian kanker ginekologi.
- c. Untuk mengetahui tipe HPV yang paling banyak menyebabkan kanker ginekologi pada wanita dengan kelainan ginekologi di Makassar
- d. Untuk mengetahui HPV tipe *high riks* dapat diidentifikasi menggunakan teknik PRELIB

BAB II

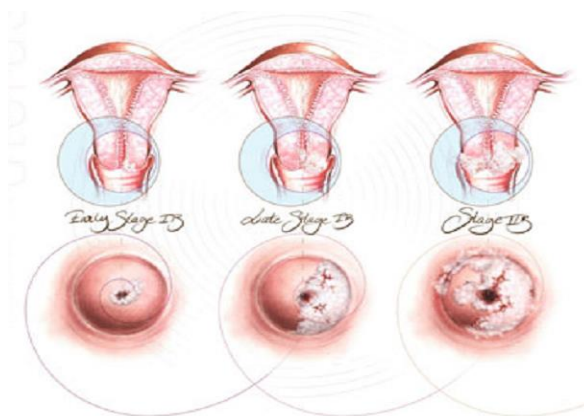
TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Khusus Kanker Serviks

1. Definisi

Kanker leher rahim adalah kanker yang tumbuh di dalam leher rahim (serviks) yaitu suatu daerah yang terdapat pada organ reproduksi wanita, yang merupakan pintu masuk kearah rahim (uterus), dengan vagina (Marjikoen, 2007).

Kanker serviks adalah tumbuhnya sel-sel abnormal pada jaringan leher rahim (serviks). Kanker serviks merupakan kanker primer yang berasal dari serviks (kanalis servikalis dan atau porsio). Kanker serviks merupakan jenis kanker penyebab kematian kedua terbanyak pada wanita di seluruh dunia dengan insidens sebesar 25 – 40 per 100.000 wanita per tahun (Aziz et al, 1985; Lembahmanah, 2009; Noviana, 2012; Tambuanan et al, 2007; WHO, 2010).



Gambar 1. Invasif Kanker (www.kankerserviks.com)

2. Epidemiologi

Kanker leher rahim (serviks) atau karsinoma serviks uteri merupakan kanker pembunuh wanita nomor dua di dunia setelah kanker payudara. Setiap tahunnya, terdapat kurang lebih 500.000 kasus baru kanker leher rahim (*cervical cancer*), sebanyak 80% terjadi pada wanita yang hidup di negara berkembang. Sedikitnya 231.000 wanita di seluruh dunia meninggal akibat kanker leher rahim. Dari jumlah itu, 50% kematian terjadi di negara – negara berkembang. Hal tersebut terjadi karena pasien datang dalam stadium lanjut (Aziz, 2001; Lembahmanah, 2009).

Berdasarkan laporan, kanker leher rahim ditemukan paling banyak pada usia setelah 40 tahun dan lesi derajat tinggi pada umumnya dapat dideteksi sepuluh tahun sebelum terjadi kanker dengan puncak terjadinya displasia leher rahim pada usia 35 tahun (WHO, 1992). Di Indonesia terjadi peningkatan kejadian kanker dalam jangka waktu 10 tahun. Peringkat kanker sebagai penyebab kematian naik dari peringkat 12 menjadi peringkat 6. Diperkirakan terdapat 190.000 penderita baru dan 1/5 akan meninggal akibat penyakit kanker. Namun akibat kanker bisa dikurangi 3-35 % bila dilakukan tindakan preventif, skrining dan deteksi dini.

Menurut data Departemen Kesehatan RI, penyakit kanker leher rahim saat ini menempati urutan pertama daftar kanker yang diderita kaum wanita. Saat ini di Indonesia ada sekitar 100 kasus per 100 ribu penduduk atau 200 ribu kasus setiap tahunnya. Kanker serviks yang

sudah masuk ke stadium lanjut sering menyebabkan kematian dalam jangka waktu relatif cepat. Selain itu, lebih dari 70% kasus yang datang ke rumah sakit ditemukan dalam keadaan stadium lanjut. Selama kurun waktu 5 tahun, usia penderita antara 30 - 60 tahun, terbanyak antara 45 - 50 tahun. Periode laten dari fase prainvasif untuk menjadi invasif memakan waktu sekitar 10 tahun. Hanya 9% dari wanita berusia dibawah 35 tahun menunjukkan kanker serviks yang invasif pada saat didiagnosis, sedangkan 53% dari KIS (karsinoma *insitu*) terdapat pada wanita diatas usia 35 tahun (DEPKES RI, 2005; Legra et al, 2004; Lembahmanah, 2009).

3. Etiologi dan perjalanan Penyakit

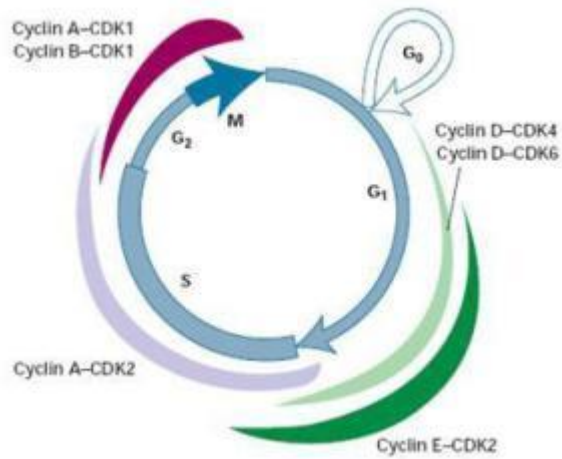
Infeksi HPV risiko tinggi merupakan faktor etiologi kanker serviks. Pendapat ini ditunjang oleh berbagai penelitian. Penelitian yang dilakukan oleh International Agency for Research on Cancer (IARC) terhadap 1.000 sampel dari 22 negara mendapatkan adanya infeksi HPV pada sejumlah 99,7% kanker serviks. Penelitian metaanalisis yang meliputi 10.000 kasus didapatkan 8 tipe HPV yang banyak ditemukan, yaitu tipe 16, 18, 45, 31, 33, 52, 58 dan 35. Penelitian kasus kontrol dengan 2.500 kasus karsinoma serviks dan 2.500 perempuan yang tidak menderita kanker serviks sebagai kontrol, deteksi infeksi HPV pada penelitian tersebut dengan pemeriksaan PCR. Total prevalensi infeksi HPV pada penderita kanker serviks jenis karsinoma sel skuamosa adalah 94,1%. Prevalensi infeksi HPV pada penderita kanker serviks jenis adenokarsinoma dan

adenoskuamosa adalah 93%. Penelitian pada NIS II/III mendapatkan infeksi HPV yang didominasi oleh tipe 16 dan 18. Progresivitas menjadi NIS II/III setelah menderita infeksi HPV berkisar 2 tahun (Munoz et al, 2006; Parkin et al 2006; Andrijono, 2007).

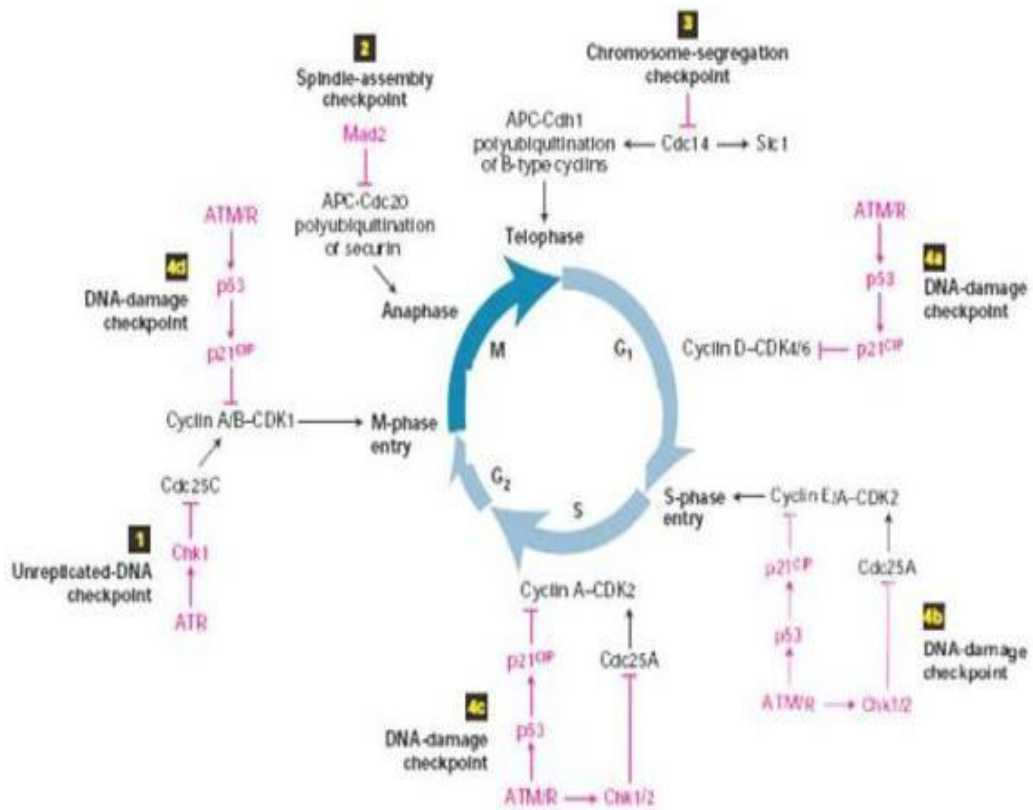
HPV yang merupakan faktor inisiator dari kanker serviks yang menyebabkan terjadinya gangguan sel serviks. Onkoprotein E6 dan E7 yang berasal dari HPV merupakan penyebab terjadinya degenerasi keganasan. Integrasi DNA virus dengan genom sel tubuh merupakan awal dari proses yang mengarah transformasi. Integrasi DNA virus dimulai pada daerah E1 - E2. Integrasi menyebabkan E2 tidak berfungsi, tidak berfungsinya E2 menyebabkan rangsangan terhadap E6 dan E7 yang akan menghambat p53 dan pRb. Hambatan kedua TSG menyebabkan siklus sel tidak terkontrol, perbaikan DNA tidak terjadi, dan apoptosis tidak terjadi. E6 akan mengikat p53 sehingga *Tumor suppressor gene* (TSG) p53 akan kehilangan fungsinya, yaitu untuk menghentikan siklus sel pada fase G1. Sedangkan onkoprotein E7 akan mengikat TSG Rb, ikatan ini menyebabkan terlepasnya E2F, yang merupakan faktor transkripsi sehingga siklus sel berjalan tanpa kontrol (Andrijono, 2007; Kaufman et al, 2000; Shin et al, 2001).

Penghentian siklus sel pada fase G1 oleh P53 bertujuan memberi kesempatan kepada sel untuk memperbaiki kerusakan yang timbul. Setelah perbaikan selesai maka sel akan masuk ke fase S. p53 menghentikan siklus sel dengan cara menghambat kompleks cdk – cyclin

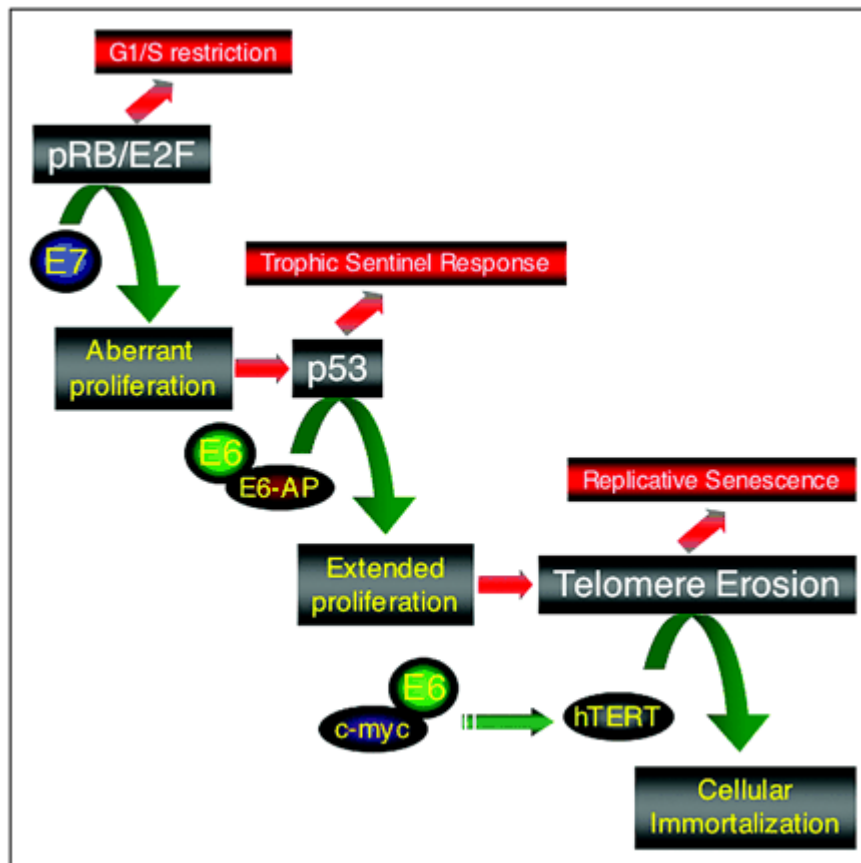
yang berfungsi merangsang siklus sel untuk memasuki fase selanjutnya. Jika penghentian sel pada fase G1 tidak terjadi, dan perbaikan tidak terjadi, maka sel akan terus masuk ke fase S tanpa ada perbaikan. Sel yang abnormal ini akan terus membelah dan berkembang tanpa kontrol. Selain itu p53 juga berfungsi sebagai perangsang apoptosis, yaitu proses kematian sel yang dimulai dari kehancuran gen intrasel. Apoptosis merupakan upaya fisiologis tubuh untuk mematikan sel yang tidak dapat diperbaiki. Hilangnya fungsi p53 menyebabkan proses apoptosis tidak berjalan. Protein E7 menghambat proses perbaikan sel melalui mekanisme yang berbeda. Pada proses regulasi siklus sel di fase G₀ dan G₁ *Tumor suppressor gene* pRb berikatan dengan E2F ikatan ini menyebabkan E2F menjadi tidak aktif E2F merupakan gen yang akan merangsang siklus sel melalui aktivasi proto-onkogen c-myc, dan N-myc. Protein E7 masuk ke dalam sel dan mengikat pRb yang menyebabkan E2F bebas terlepas, lalu merangsang proto-onkogen c-myc dan N-myc sehingga akan terjadi proses transkripsi atau proses siklus sel. Kekuatan ikatan protein E7 dengan pRb berbeda – beda pada beberapa tipe virus HPV , misalnya: ikatan E7 HPV 6 dan 11 kurang kuat dibandingkan dengan HPV 16 ataupun 18 (Andrijono, 2007; Bosch et al, 2002; Park et al, 1995).



Gambar 2. Siklus sel. Pengaturan sistem siklus sel oleh dipengaruhi oleh aktivitas kompleks cyclin-CDK (Lodish et al., 2000)



Gambar 3. Kontrol checkpoint pada siklus sel (Lodish et al., 2000).



Gambar 4. Patogenesis Karsinoma Serviks (Munger et al, 2004)

4. Faktor Risiko

Ada beberapa faktor yang dapat meningkatkan resiko terjadinya kanker serviks, antara lain adalah:

a. Usia reproduksi

Usia pasien sangat menentukan kesehatan maternal dan berkaitan erat dengan kondisi kehamilan, persalinan, dan nifas. Proses reproduksi sebaiknya berlangsung pada saat ibu berumur 20-35 tahun, sebab pada saat itu penyulit kehamilan jarang terjadi.

Usia rata-rata dari pasien karsinoma kanker serviks dari penelitian retrospektif yang dilakukan oleh Schellekens dan Ranti di Rumah Sakit dr.

Hasan Sadikin Bandung untuk periode januari tahun 2000 sampai juli 2001 dengan interval usia mulai 21 sampai 85 tahun (N=307) mendapatkan penderita kanker serviks rata-rata berusia 32 tahun. Di tempat yang sama S. Van Loon melakukan penelitian terhadap 58 pasien dengan kanker serviks pada tahun 1996, dan mendapatkan pasien mayoritas yaitu 20,3% berusia 40-44 tahun dan usia rata-rata 46 tahun (Lembahmanah, 2009; Rasjidi, 2008).

b. Hubungan seks pada usia muda atau pernikahan pada usia muda

Telah lama diketahui bahwa umur sangat berpengaruh terhadap proses reproduksi. Usia yang dianggap optimal untuk reproduksi antara 20-35 tahun.

Pada usia 20 – 40 tahun, disebut sebagai masa dewasa dini yang disebut juga usia reproduktif. Sehingga pada masa ini diharapkan orang telah mampu untuk memecahkan masalah-masalah yang dihadapi dengan tenang secara emosional, perkembangan fisiknya, maupun kemampuannya dalam hal kehamilan baik kelahiran bayinya.

Usia kawin muda menurut Rotkin, Chistoperson dan Parker serta Barron dan Richart jelas berpengaruh. Rotkin menghubungkan terjadinya karsinoma serviks dengan usia saat seorang wanita mulai aktif berhubungan seksual, dikatakan pula olehnya karsinoma serviks cenderung timbul bila saat mulai aktif berhubungan seksual pada saat usia kurang dari 17 tahun. Lebih dijelaskan bahwa umur antara 15-20

tahun merupakan periode yang rentan. Pada periode laten antara coitus pertama dan terjadinya kanker serviks kurang lebih dari 30 tahun.

Periode rentan ini berhubungan dengan kiatnya proses metaplasia pada usia pubertas, sehingga bila ada yang mengganggu proses metaplasia tersebut misalnya infeksi akan memudahkan beralihnya proses menjadi displasia yang lebih berpotensi untuk terjadinya keganasan. Christoperson dan Parker menemukan perbedaan statistik yang bermakna antara wanita yang menikah usia 15-19 tahun dibandingkan wanita yang menikah usia 20-24 tahun, pada golongan pertama cenderung untuk terkena kanker serviks. Barron dan Richat pada penelitian dengan mengambil sampel 7.000 wanita di Barbara Hindia Barat, cenderung menduga epitel serviks wanita remaja sangat rentan terhadap bahan-bahan karsinogenik yang ditularkan melalui hubungan seksual dibanding epitel serviks wanita dewasa (Legra et al, 2004; Lembahmanah, 2009; Rasjidi, 2008).

c. Jumlah paritas

Kehamilan yang optimal adalah kehamilan anak lebih dari tiga. Kehamilan setelah tiga mempunyai risiko yang meningkat. Pada primigravida umumnya belum mempunyai gambaran mengenai kejadian-kejadian yang akan dialami saat melahirkan dan merawat bayinya. Oleh sebab itu penting sekali mempersiapkan ibu dengan memberikan penjelasan yang diperlukan mengenai kelahiran dan perawatan bayinya. Sedangkan pada ibu yang sudah pernah mempunyai anak akan

mempunyai gambaran dan pengalaman dalam merawat bayinya, sehingga akan lebih siap dan tahu merawat bayinya.

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Mubasir dkk, Pada tahun 1993 menemukan lebih tinggi frekuensi kejadian kanker serviks pada pasien yang pernah melahirkan dari pada yang belum melahirkan. Multiparitas terutama dihubungkan dengan kemungkinan menikah pada usia muda, disamping itu dihubungkan pula dengan sosial ekonomi yang rendah dan higiene yang buruk.

Sumber lain mengemukakan bahwa paritas tinggi merupakan salah satu faktor risiko terkena kanker serviks. Bukhari L dan Hadi A menyebutkan bahwa golongan wanita yang bersalin 6 kali atau lebih mempunyai resiko menderita kanker serviks 1,9 kali lebih besar dari pada golongan wanita yang bersalin antara 1-5 kali, meskipun hal ini merupakan faktor risiko namun hal tersebut harus dijadikan perhatian kita untuk mendeteksi terhadap golongan ini. Kehamilan dan persalinan yang melebihi 3 orang dan jarak kehamilan terlalu dekat akan meningkatkan kejadian kanker seriks.

d. Tingkat pendidikan

Pendidikan adalah proses perubahan sikap dan tata laku seseorang atau kelompok orang dalam usaha mendewasakan manusia melalui pengajaran dan pelatihan. Pendidikan formal adalah segenap bentuk pendidikan atau pelatihan yang diberikan secara terorganisasi dan berjenjang, baik yang bersifat umum, maupun yang bersifat khusus.

Pendidikan in formal adalah pendidikan dan pelatihan yang terdapat di luar lingkungan sekolah, dalam bentuk yang tidak terorganisasi.

Dalam arti formal pendidikan adalah suatu proses penyampaian bahan atau materi pendidikan guna mencapai perubahan tingkah laku. Sedangkan tugas pendidikan disini adalah memberikan atau peningkatan pengetahuan dan pengertian, menimbulkan sikap positif serta memberikan/ meningkatkan keterampilan – keterampilan masyarakat atau individu tentang aspek-aspek yang bersangkutan sehingga dicapai suatu masyarakat yang berkembang. Salah satu jenis pendidikan diantaranya adalah pendidikan formal yaitu pendidikan yang diperoleh di lingkungan sekolah seperti SD, SLTP, SLTA, Perguruan Tinggi dan lain-lain. Pendidikan formal berfungsi untuk mengajarkan pengetahuan umum dan pengetahuan yang bersifat khusus.²² Pendidikan formal di dapatkan dari sekolah, pendidikan informal didapatkan diluar sekolah misalnya dalam keluarga atau masyarakat.

Tingkat pendidikan seseorang dapat mendukung atau mempengaruhi tingkat pengetahuan seseorang dan taraf pendidikan yang rendah selalu berhubungan dengan informasi dan pengetahuan yang terbatas. Semakin tinggi pendidikan seseorang semakin tinggi pula pemahaman seseorang terhadap informasi yang didapat dan pengetahuannya pun akan semakin tinggi. Pendidikan yang rendah menyebabkan seseorang tidak peduli terhadap program kesehatan yang ada, sehingga mereka tidak mengenal

bahaya yang mungkin terjadi. Walaupun ada sarana yang baik belum tentu mereka tahu menggunakannya.

Perilaku hidup sehat sangat dipengaruhi oleh tingkat pendidikan penduduk. Tingkat pendidikan yang masih rendah merupakan salah satu sebab rendahnya pemahaman masyarakat terhadap informasi kesehatan serta pembentukan perilaku sehat.

Tingkat pengetahuan yang tinggi pada seseorang akan menjadikannya lebih kritis dalam menghadapi berbagai masalah. Sehingga pada wanita yang mempunyai tingkat pendidikan yang baik akan membangkitkan partisipasinya dalam memelihara dan merawat kesehatannya. Wanita yang berpendidikan tinggi cenderung akan memperhatikan kesehatan diri dan keluarganya.

Pendidikan dan pendapatan keluarga dihubungkan dengan nutrisi yang dikonsumsi sehari-hari, higiene serta kepatuhan untuk melakukan pemeriksaan secara teratur. Pendidikan yang rendah menyebabkan seseorang tidak mengenal bahaya yang mungkin terjadi. Walaupun ada sarana yang baik belum tentu mereka tahu menggunakannya. Dengan pendidikan yang tinggi maka semakin banyak seseorang mengetahui tentang permasalahan yang menyangkut perbaikan lingkungan dan hidupnya.

Selain itu peningkatan pendidikan formal wanita akan mendewasakan usia perkawinan. Hal ini membuat rentang usia subur yang dijalani dalam ikatan perkawinan semakin pendek. Tingkat

pendidikan yang tinggi akan meningkatkan kemungkinan bagi wanita untuk tidak menikah sama sekali selama hidupnya. Hal ini terjadi terutama karena tingkat pendidikan yang tinggi mampu membuka kesempatan yang lebih luas bagi wanita untuk bekerja, berorganisasi, dan mengembangkan kariernya di luar rumah (Legra et al, 2004; Lembahmanah, 2009; Soegiyanto, 2008).

e. Penggunaan kontrasepsi oral jangka panjang (lebih dari 5 tahun)

Risiko noninvasif dan invasif kanker serviks telah menunjukkan hubungan dengan kontrasepsi oral. Bagaimanapun, penemuan ini hasilnya tidak selalu konsisten dan tidak semua studi dapat membenarkan perkiraan risiko dengan mengontrol pengaruh kegiatan seksual. Beberapa studi gagal dalam menunjukkan beberapa hubungan dari salah satu studi, bahkan melaporkan proteksi terhadap penyakit yang invasif. Hubungan yang terakhir ini mungkin palsu dan menunjukkan deteksi adanya bias karena peningkatan skrining terhadap pengguna kontrasepsi. Beberapa studi yang lebih lanjut kemudian memerlukan konfirmasi atau menyangkal observasi ini mengenai kontrasepsi oral (Legra et al, 2004; Lembahmanah, 2009).

f. Riwayat kanker serviks pada keluarga

Bila seorang wanita mempunyai saudara kandung atau ibu yang mempunyai kanker serviks, maka ia mempunyai kemungkinan 2-3 kali lebih besar untuk juga mempunyai kanker serviks dibandingkan dengan orang normal. Beberapa peneliti menduga hal ini berhubungan dengan

berkurangnya kemampuan untuk melawan infeksi HPV (Legra et al, 2004; Lembahmanah, 2009)

g. Berganti-ganti pasangan seksual

Perilaku seksual berupa berganti pasangan seks akan meningkatkan penularan penyakit kelamin. Penyakit yang ditularkan seperti infeksi human papilloma virus (HPV) telah terbukti dapat meningkatkan timbulnya kanker serviks, penis dan vulva. Risiko terkena kanker serviks menjadi 10 kali lipat pada wanita yang mempunyai partner seksual 6 orang atau lebih. Di samping itu, virus herpes simpleks tipe-2 dapat menjadi faktor pendamping (Aziz et al, 1985; DepKes RI, 2005; Lembahmanah, 2009)

h. Merokok

Wanita perokok memiliki risiko 2 kali lebih besar terkena kanker serviks dibandingkan dengan wanita yang tidak merokok. Penelitian menunjukkan, lendir serviks pada wanita perokok mengandung nikotin dan zat-zat lainnya yang ada di dalam rokok. Zat-zat tersebut akan menurunkan daya tahan serviks di samping merupakan ko-karsinogen infeksi virus (Lembahmanah, 2009).

i. Defisiensi zat gizi

Ada beberapa penelitian yang menyimpulkan bahwa defisiensi asam folat dapat meningkatkan risiko terjadinya displasia ringan dan sedang, serta mungkin juga meningkatkan risiko terjadinya kanker serviks pada wanita yang makanannya rendah beta karoten dan retinol (vitamin A) (WHO, 2006; Lembahmanah, 2009)

j. Trauma kronis pada serviks seperti persalinan, infeksi, dan iritasi menahun

k. Pemakaian DES (dietilstilbestrol) pada wanita hamil untuk mencegah keguguran (banyak digunakan pada tahun 1940-1970)

l. Gangguan sistem kekebalan

m. Infeksi herpes genitalis atau infeksi klamidia menahun¹³

n. Golongan ekonomi lemah (karena tidak mampu melakukan Pap smear secara rutin)(Lembahmanah, 2009; Rasjidi,2008)

5. Patogenesis dan Patofisiologi

Karsinoma serviks biasa timbul di daerah yang disebut *squamo-columnar junction (SCJ)* atau sambungan skuamo-kolumnar (SSK), yaitu batas antara epitei yang melapisi ektoserviks (porsio) dan endoserviks kanalis serviks, dimana secara histologik terjadi perubahan dari epitei ektoserviks yaitu epitei skuamosa berlapis dengan epitei endoserviks yaitu epitei kuboid/kolumnar pendek selapis bersilia. Letak SSK dipengaruhi oleh faktor usia, aktivitas seksual dan paritas. Pada wanita muda SSK berada di luar ostium uteri eksternum, sedangkan pada wanita berusia di atas 35 tahun SSK berada di dalam kanalis serviks. Oleh karena itu pada wanita muda, SSK yang berada di luar ostium uteri eksternum ini rentan terhadap faktor luar berupa mutagen yang akan memicu displasia dari SSK tersebut. Pada wanita dengan aktivitas seksual tinggi, SSK terletak di ostium eksternum karena trauma atau retraksi otot oleh prostaglandin (Lembahmanah, 2009; Morrow et al, 1987).

Pada masa kehidupan wanita terjadi perubahan fisiologis pada epitel serviks; epitel kolumnar akan digantikan oleh epitel skuamosa yang diduga berasal dari cadangan epitel kolumnar. Proses pergantian epitel kolumnar menjadi epitel skuamosa disebut proses metaplasia dan terjadi akibat pengaruh pH vagina yang rendah. Aktivitas metaplasia yang tinggi sering dijumpai pada masa pubertas. Akibat proses metaplasia ini secara morfogenetik terdapat 2 SCJ, yaitu SCJ asli dan SCJ baru yang menjadi tempat pertemuan antara epitel skuamosa baru dengan epitel kolumnar. Daerah di antara kedua SSK ini disebut daerah transformasi (Lembahmanah, 2009; Morrow et al, 1987).

Penelitian akhir – akhir ini lebih memfokuskan virus sebagai salah satu faktor penyebab yang penting, terutama virus DNA. Pada proses karsinogenesis asam nukleat virus tersebut dapat bersatu ke dalam gen dan DNA sel *host* sehingga menyebabkan terjadinya mutasi sel. Sel yang mengalami mutasi tersebut dapat berkembang menjadi sel displastik sehingga terjadi kelainan epitel yang disebut displasia. Dimulai dari displasia ringan, displasia sedang, displasia berat dan karsinoma *insitu* dan kemudian berkembang menjadi karsinoma invasif. Tingkat displasia dan karsinoma *insitu* dikenal juga sebagai tingkat pra-kanker.

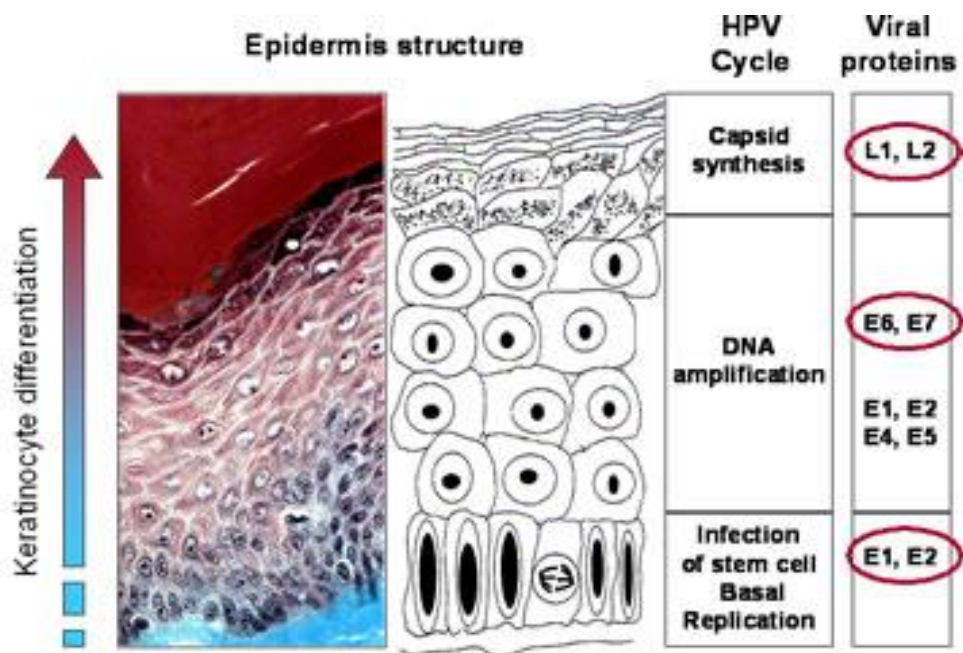
Displasia mencakup pengertian berbagai gangguan maturasi epitel skuamosa yang secara sitologik dan histologik berbeda dari epitel normal, tetapi tidak memenuhi persyaratan sel karsinoma. Perbedaan derajat displasia didasarkan atas tebal epitel yang mengalami kelainan dan berat

ringannya kelainan pada sel. Sedangkan karsinoma *insitu* adalah gangguan maturasi epitel skuamosa yang menyerupai karsinoma invasif tetapi membrana basalis masih utuh.

Klasifikasi terbaru menggunakan istilah *Neoplasia Intraepitel Serviks* (NIS) untuk kedua bentuk displasia dan karsinoma *insitu*. NIS terdiri dari

1. NIS 1, untuk displasia ringan
2. NIS 2, untuk displasia sedang;
3. NIS 3, untuk displasia berat dan karsinoma *in-situ*.

Patogenesis NIS dapat dianggap sebagai suatu spektrum penyakit yang dimulai dari displasia ringan (NIS 1), displasia sedang (NIS 2), displasia berat dan karsinoma *in-situ* (NIS 3) untuk kemudian berkembang menjadi karsinoma invasif. Beberapa peneliti menemukan bahwa 30-35% NIS mengalami regresi, yang terbanyak berasal dari NIS 1/NIS 2. Karena tidak dapat ditentukan lesi mana yang akan berkembang menjadi progresif dan mana yang tidak, maka semua tingkat NIS dianggap potensial menjadi ganas sehingga harus ditangani sebagaimana mestinya.



Gambar 5. Perubahan sel epitel serviks yang menyebabkan kanker pada infeksi HPV (encyclopedia article)



Gambar 6. Perjalanan penyakit kanker serviks (www.kankerserviks.com)

6. Klasifikasi dan Staging

a. Sistem Klasifikasi Lesi Prakanker (Lembahmanah, 2009; WHO, 2006)

Ada beberapa sistem klasifikasi lesi prakanker yang digunakan saat ini, dibedakan berdasarkan pemeriksaan histologi dan sitologinya. Berikut tabel klasifikasi lesi prakanker:

Tabel 1. Klasifikasi lesi prakanker

Klasifikasi Sitologi (untuk skrining)		Klasifikasi Histologi (untuk diagnosis)	
Pap	Sistem Bethesda	NIS (Neoplasia Intraepitelial Serviks)	Klasifikasi Deskriptif WHO
Kelas I	Normal	Normal	Normal
Kelas II	ASC-US ASC-H	Atipik	Atipik
Kelas III	LSIL	NIS 1 termasuk kondiloma	Koilosis
Kelas III	HSIL	NIS 2	Displasia sedang
Kelas III	HSIL	NIS 3	Displasia berat
Kelas IV	HSIL	NIS 3	Karsinoma in situ
Kelas V	Karsinoma invasive	Karsinoma invasif	Karsinoma invasive

Keterangan

ASC-US : *atypical squamous cell of undetermined significance*

ASC-H : *atypical squamous cell: cannot exclude a high grade squamousepithelial lesion*

LSIL : *Low-grade squamous interaepithelial lesion*

HSIL : *High-grae squamous interaepithelial lesion*

b. Klasifikasi histologik kanker serviks (Benedet et al, 2000; Krivak et al, 2002; Lembahmanah, 2009)

Tabel 2. Klasifikasi histologik kanker servik

WHO 1975	WHO 1994
<p>Karsinoma sel skuamosa</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dengan pertandukan - Tipe sel besar tanpa pertandukan - Tipe sel kecil tanpa pertandukan <p>Adenokarsinoma</p> <ul style="list-style-type: none"> - Tipe endoserviks - Tipe endometrioid <p>Karsinoadenoskuamosa (adenoepidermoi)</p> <ul style="list-style-type: none"> - Karsinoma adenoid kistik - Adenokarsinoma - Mesonefroid <p>Tumor mesenkim</p> <ul style="list-style-type: none"> - Karsinoma tidak berdiferensiasi - Tumor metastasis 	<p>Karsinoma sel skuamosa</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dengan pertandukan - Tanpa pertandukan - Tipe verukosa - Tipe kondilomatosa - Tipe kapiler - Tipe limfoepitelioma <p>Adenokarsinoma</p> <ul style="list-style-type: none"> - Tipe musinosa - Tipe mesonefrik - Tipe clear cell - Tipe serosa - Tipe endometrioid <p>Karsinoadenoskuamosa</p> <ul style="list-style-type: none"> - Karsinoma <i>glassy cell</i> - Karsinoma sel kecil - Karsinoma adenoid basal - Tumor karsinoid - Karsinoma adenoid kistik <p>Tumor mesenkim</p> <ul style="list-style-type: none"> - Karsinoma tidak berdiferensiasi

Dari seluruh jenis kanker serviks di atas jenis skuamosa merupakan jenis yang paling sering ditemukan, yaitu \pm 90%; adenokarsinoma 5%;

sedang jenis lainnya 5%. Karsinoma skuamosa terlihat sebagai jalinan kelompok sel-sel yang berasal dari skuamosa dengan pertandukan atau tidak, dan kadang-kadang tumor sendiri dari sel-sel yang berdiferensiasi buruk atau dari sel-sel yang disebut *small cell*, berbentuk kumparan atau kecil serta bulat dan batas tumor stroma tidak jelas. Sel ini berasal dari sel basal atau *reserved cell*. Sedang adenokarsinoma terlihat sebagai sel-sel yang berasal dari epitei torak endoserviks, atau dari kelenjar endoserviks yang mengeluarkan mukus.

c. Sistem Staging Kanker (Andrijono, 2007; Benedet et al, 2000; Lembahmanah, 2009)

International Federation of Gynecologists and Obstetricians Staging System for Cervical Cancer (FIGO) pada tahun 2000 menetapkan suatu sistem stadium kanker sebagai berikut:

Tabel 3. Sistem stadium kanker

Stadium	Karakteristik
0	Lesi belum menembus membran basalis
I	Lesi tumor masih terbatas di serviks
IA1	Lesi telah menembus membran basalis kurang dari 3 mm dengan diameter permukaan tumor <7mm
IA2	Lesi telah menembus membran basalis > 3 mm tetapi <5mm dengan diameter permukaan tumor <7mm
MI	Lesi terbatas di serviks dengan ukuran lesi primer <4cm
IB2	Lesi terbatas di serviks dengan ukuran lesi primer >4cm
II	Lesi telah keluar dari serviks (meluas ke parametrium dan sepertiga proksimal vagina)
IIA	Lesi telah meluas ke sepertiga proksimal vagina
IIB	Lesi telah meluas ke parametrium tetapi tidak mencapai dinding panggul

III	Lesi telah keluar dari serviks (menyebar ke parametrium dan atau sepertiga vagina distal)
IIIA	Lesi menyebar ke sepertiga vagina distal
NM	Lesi menyebar ke parametrium sampai dinding panggul
IV	Lesi menyebar keluar organ genitalia
IVA	Lesi meluas ke rongga panggul, dan atau menyebar ke mukosa vesika urinaria
IVB	Lesi meluas ke mukosa rektum dan atau meluas ke organ jauh

7. Diagnosis

a. Gejala dan Tanda

Lesi pra-kanker dan kanker stadium dini biasanya asimtomatik dan hanya dapat terdeteksi dengan pemeriksaan sitologi. Boon dan Suurmeijer melaporkan bahwa sebanyak 76% kasus tidak menunjukkan gejala sama sekali.^{30'31} Jika sudah terjadi kanker akan timbul gejala yang sesuai dengan penyakitnya, yaitu dapat lokal atau tersebar. Gejala yang timbul dapat berupa perdarahan pasca-sanggama atau dapat juga terjadi perdarahan di luar masa haid dan pasca menopause. Jika tumornya besar, dapat terjadi infeksi dan menimbulkan cairan (duh) berbau yang mengalir keluar dari vagina. Bila penyakitnya sudah lanjut, akan timbul nyeri panggul, gejala yang berkaitan dengan kandung kemih dan usus besar. Gejala lain yang timbul dapat berupa gangguan organ yang terkena misalnya otak (nyeri kepala, gangguan kesadaran), paru (sesak atau batuk darah), tulang (nyeri atau patah), hati (nyeri perut kanan atas, kuning, atau pembengkakan), dan lain-lain (Boon, 1991; Lembahmanah, 2009; Nuranna, 2005; Pretoriun et al, 1991).

b. Pemeriksaan

Sejak 2 dekade terakhir terdapat kemajuan dalam pemahaman tentang riwayat alamiah dan terapi lanjutan dari kanker serviks. Infeksi Human Papiloma Virus (HPV) sekarang telah dikenal sebagai penyebab utama kanker serviks, selain itu sebuah laporan sitologi baru telah mengembangkan diagnosis, penanganan lesi prakanker dan protokol terapi spesifik peningkatan ketahanan pasien dengan penyakit dini dan lanjut. Penelitian terbaru sekarang ini terfokus pada penentuan infeksi menurut tipe HPV onkogenik, penilaian profilaksis dan terapi vaksin serta pengembangan strategi skrining yang berkesinambungan dengan tes HPV dan metode lain berdasarkan sitologi. Hal ini merupakan batu loncatan untuk mengimplementasikan deteksi dini kanker serviks dengan beberapa macam pemeriksaan seperti tes Pap (*Pap Smear*), Pap net, servikografi, Inspeksi Visual Asam Asetat (IVA), tes HPV, kolposkopi dan sitologi berbasis cairan (*Thin-Layer Pap Smear Preparation*) (Kitchener et al, 1999; Lembahmanah, 2009).

Namun metode yang sekarang ini sering digunakan diantaranya adalah Tes Pap dan Inspeksi Visual Asetat (IVA). Tes Pap memiliki sensitivitas 51% dan spesifisitas 98%. Selain itu pemeriksaan *Pap Smear* masih memerlukan penunjang laboratorium sitologi dan dokter ahli patologi yang relatif memerlukan waktu dan biaya besar. Sedangkan IVA memiliki sensitivitas sampai 96% dan spesifisitas 97% untuk program yang dilaksanakan oleh tenaga medis yang terlatih. Hal ini menunjukkan

bahwa IVA memiliki sensitivitas yang hampir sama dengan sitologi serviks (*Pap smear*) sehingga dapat menjadi metode skrining yang efektif pada negara berkembang seperti di Indonesia (Lembahmanah, 2009; Nuranna, 2005).

8. Pencegahan

Infeksi HPV risiko tinggi merupakan penyebab terjadinya kanker serviks, sehingga tindakan skrining mengalami pergeseran yang semula ditujukan untuk pencegahan sekunder bergeser untuk tujuan pencegahan primer. Mencegah terjadinya infeksi HPV risiko tinggi merupakan pencegahan primer dan dianggap lebih penting, karena pencegahan sekunder mempunyai beberapa kelemahan, antara lain:

1. Pencegahan sekunder tidak mencegah terjadinya Neoplasia intraepitelial serviks (NIS)
2. Terapi lesi prakanker yang baru terdeteksi pada pencegahan sekunder seringkali menimbulkan morbiditas terhadap fungsi fertilitas pasien, dan
3. Pencegahan sekunder akan mengalami hambatan pada sumber daya manusia dan alat yang kurang.

Pencegahan primer hanya mungkin dilakukan dengan deteksi terjadinya infeksi HPV risiko tinggi terlebih dahulu. Identifikasi terjadinya infeksi HPV risiko tinggi dapat dilakukan dengan Hybrid Capture (HC) atau dengan Polymerase Chain Reaction (PCR). Selain itu, berbagai macam cara mendeteksi HPV, antara lain dengan Vira Pap, Vira Type, dan

HPV Profile. Dengan metode-metode tersebut dapat diidentifikasi kelompok HPV *low risks* (HPV tipe 6, 11, 42, 43 dan 44), dan *high risks* (HPV tipe 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56 dan 58). Pemeriksaan HC dinilai lebih mudah dilakukan dalam program skrining karena mampu mendeteksi LSIL, ASCUS dan HSIL secara lebih sensitif dibandingkan dengan pemeriksaan pap smear, walaupun dengan spesifisitas yang lebih rendah. Sensitivitas HC pada NIS I, HSIL dan kanker adalah sebesar 51,5%, 89,3% (85,2-96,5%), dan 100%, berturut-turut, dengan spesifisitas 87,8% (81-95%). Secara keseluruhan sensitivitas HC dibandingkan dengan pemeriksaan *pap smear* lebih tinggi 23% (untuk NIS I sebesar 11% dan untuk NIS II-III sebesar 8%), dan spesifisitas HC lebih rendah 6% dibandingkan dengan *pap smear*. Sensitivitas gabungan HC dan *pap smear* akan meningkatkan sensitivitas sampai 39%, dan spesifisitas tetap lebih rendah 7%. Pemeriksaan HC saja hanya mampu mendeteksi infeksi HPV risiko tinggi tetapi tidak mampu mendeteksi kelainan sel prakanker sehingga spesifisitas HC lebih rendah jika dibandingkan dengan *pap smear*. Temuan pada HC dan *pap smear* pada beberapa institusi menjadi dasar penelitian protokol skrining dan tindak lanjut hasil pemeriksaan. HC yang positif harus diikuti dengan pengawasan yang ketat, kelainan sitologi harus diikuti dengan terapi, sedangkan hasil negatif keduanya menjadi dasar pemberian vaksinasi HPV (Andrijono, 2007; Arbyn et al, 2006; Hum et al, 2006; Inoue et al, 2006; Kitchener et al, 2006; Longatto et al, 2006).

B. Tinjauan Khusus *Human papilloma virus*

1. Defnisi

Human papilloma virus (HPVs) adalah virus DNA famili *papillomaviridae*. HPV virion tidak mempunyai *envelope*, berdiameter 55 nm, mempunyai kapsid ikosahedral. Genom HPV berbentuk sirkuler dan panjangnya 8 kb, mempunyai 8 *open reading frames* (ORFs) dan dibagi menjadi gene early (E) dan late (L). Gen E mensintesis 6 protein E yaitu E1, E2, E4, E5, E6 dan E7, yang banyak terkait dalam proses replikasi virus dan onkogen, sedangkan gen L mensintesis 2 protein L yaitu L1 dan L2 yang terkait dengan pembentukan kapsid. Saat ini lebih dari 200 tipe HPV dan dikenal atas dasar data sekuens.85 HPV genotipe yang telah diketahui ciri khasnya, sedangkan 120 isolat lainnya masih belum jelas petanda khasnya (Burd, 2003; Conway et al, 2009; Hakim, 2010; Zur, 1999).



Gambar 7. *Human papillomavirus* (Albert et al, 2002)

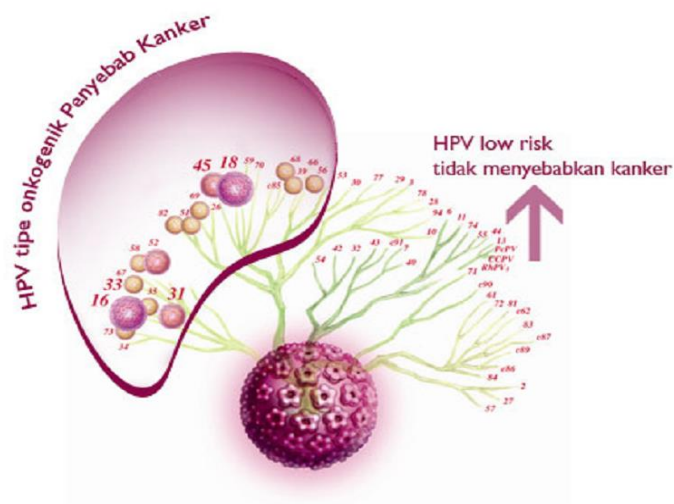
HPV dibagi menjadi 2 yaitu virus tipe *low-risk* (resiko rendah) dan *high-risk* (resiko tinggi) yang dihubungkan dengan resiko keganasan. HPV tipe resiko rendah cenderung untuk menyebabkan tumor jinak sedangkan HPV tipe resiko tinggi cenderung menyebabkan tumor ganas. Lebih dari 30 tipe HPV yang diklasifikasikan onkogenik atau resiko tinggi (*high-risk*) sebab hubungannya dengan kanker serviks yaitu tipe 16, 18, 31, 33, 34, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 dan 82. Tipe *low-risk* menyebabkan tumor jinak meskipun kadangkala dapat menyebabkan kanker antara lain kanker anogenital yaitu tipe 6, 11, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, dan 81. HPV tipe 16 paling sering dijumpai dan sekitar 50% kanker serviks invasif dijumpai HPV tipe 18, 45, 31, 33, 52 dan 58. Infeksi persisten HPV-16, HPV-18, HPV-31, HPV-45 sering menyebabkan kanker serviks. (Conway et al, 2009; Hakim, 2010; Munoz, 2003; Sheu et al, 2007)

Infeksi rongga mulut dan orofarink seringkali disebabkan oleh HPV-6, HPV-11, HPV-16, HPV-18 dan diperkirakan 40-60% perkembangan tumor ganas kepala leher dihubungkan dengan HPV-16 dan HPV-18. Resiko seseorang sepanjang hidupnya untuk terinfeksi HPV adalah 50% dengan prakiraan insidens kanker serviks dengan HPV persisten berkisar 500.000 kasus di dunia. Melalui monitoring dengan pemeriksaan Pap di Amerika dan Eropa, diperkirakan 35.000 wanita meninggal akibat penyakit ini (Clifford et al, 2003; Hakim, 2010)

HPV tersebar luas, dapat menginfeksi kulit dan mukosa epitel. HPV dapat menyebabkan manifestasi klinis baik lesi yang jinak maupun lesi

kanker. Tumor jinak yang disebabkan infeksi HPV yaitu veruka dan kondiloma akuminata sedangkan tumor ganas anogenital adalah kanker serviks, vulva, vagina, anus dan penis. Infeksi anogenital HPV-16 dan 18, 99,7% disertai kanker serviks baik *low-grade skuamous epitelial lesion* (LSIL) maupun *high-grade squamous intraepithelial lesions* (HSIL). Sifat onkogenik HPV dikaitkan dengan protein virus E6 dan E7 yang menyebabkan peningkatan proliferasi sel sehingga terjadi lesi pre kanker yang kemudian dapat berkembang menjadi kanker (Hakim, 2010; Villa, 2006)

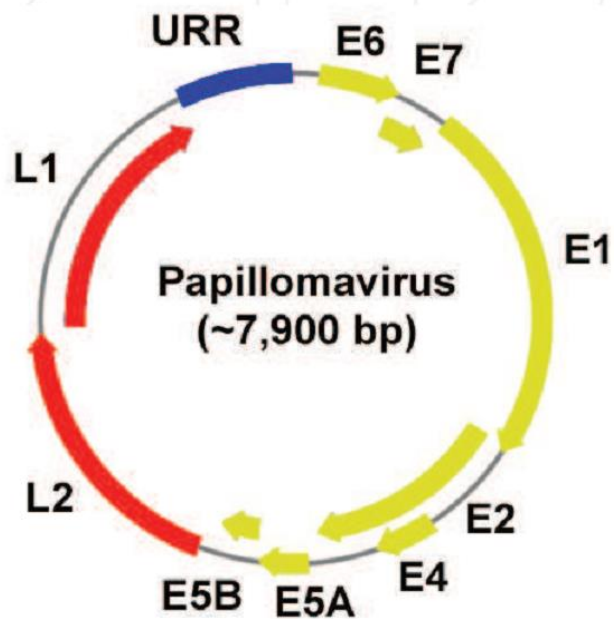
Infeksi HPV merupakan permasalahan mengingat resiko terjadi keganasan disamping jumlah HPV baru yang ditemukan terus bertambah. Mekanisme infeksi dan perubahan keganasan masih belum terungkap jelas. Pengetahuan patogenesis molekuler diperlukan dalam mendasari penanganan kasus-kasus klinis baik untuk pengobatan maupun pencegahannya.



Gambar 8. Tipe HPV (www.kankerserviks.com)

2. Biologi HPV

Genom HPV berbentuk sirkuler dan panjangnya 7,9 kb, mempunyai 8 *open reading frames* (ORFs) dan dibagi menjadi gene early (E) dan late (L) (gambar 1). Gen E mensintesis 6 protein E1, E2, E4, E5, E6 dan E7, yang banyak terkait dalam proses replikasi virus dan onkogen. Gen L mensintesis protein L1 dan L2 yang terkait dengan pembentukan kapsid. E1 dan E2 terkait dengan replikasi virus. Genom virus terdiri dari 3 segmen, 10% terdapat dalam *long control region* (LCR) yang berfungsi dalam regulasi ekspresi gen. Genom yang lain terdiri dari gen *early* (E) encode 50% dan *late* (L) encode 40%. Gen-gen tersebut encode dalam satu untai DNA. Gen L1 encode protein kapsid 55 kDa dan L2 70 kDa, sedangkan gen E encode protein non struktural yang meregulasi transkripsi dan replikasi virus. Pada umumnya gene E1, E2 dan E6 diekspresikan dalam bentuk beberapa poliprotein dan E4, E5 dan E7 dalam bentuk polipeptida tunggal. Genom HPV secara fungsional terdiri dari 3 regio, yaitu pertama noncoding *upstream regulatory region* (URR) yang berukuran 400 - 1000 bp yang disebut juga *long control region* (LCR). Regio ini mengandung p97 core promoter disertai *enhancer* dan *silence sequence* yang berfungsi mengontrol replikasi DNA. Kedua, disebut *early region* yang mengandung ORF's E1, E2, E3, E4, E5, E6 dan E7 yang terkait dalam replikasi virus. Ketiga adalah *late region* L1 dan L2 yang terkait dengan penyusunan kapsid virus (Hakim, 2010).



Gambar 9. Skema genom HPV berbentuk sirkuler (Muñoz et al, 2006)

Tabel 4. Fungsi protein pada struktur gen HPV (Castillo, 2013).

PROTEIN	FUNCTIONS
E6	Destruction of p53 tumor suppressor protein (Accumulation of mutation and Apoptosis inhibition)
E7	Inactivation of pRb tumor suppressor protein (Cell cycle progression and accumulation of p16INK4a)
E1	Viral DNA replication
E2	Viral DNA replication; repression of E6/E7 genes
E4	Assembly and release of the viral particle
E5	Interaction with the Epidermal Growth factor (EGF)
L1	Major capsid protein in the viral particle
L2	Minor capsid protein in the viral particle

Early Protein (E)

Protein E1 dan E2 adalah protein yang pertama diekspresikan dan diperkirakan berkisar 20 - 100 kopi persel basal. Kedua protein tersebut membentuk kompleks dengan polimerase dan protein lain yang diperlukan untuk memfasilitasi replikasi. Protein polipeptida E1 berukuran 68 kDa yang diekspresikan dalam jumlah sedikit. Protein E1 berkaitan dengan ATPase, aktifitas helikase dan mengikat sekuens dalam LCR untuk merangsang replikasi DNA. Gen E1 juga mengandung domain pengikat DNA, domain pengikat protein E2 dan domain katalitik. E1 yang hanya dapat berikatan lemah dengan sekuens DNA, tetapi bila berikatan dan membentuk kompleks dengan E2 ikatan tersebut menjadi kuat. E1 setelah terikat dengan E2, kemudian E1 membentuk heksamer yang mempunyai afinitas terhadap DNA. Kompleks tersebut dengan bantuan chaperone membentuk supercoiled DNA. Protein E1 juga mengikat polimerase- α DNA yang membantu replikasi virus (Dixon et al, 2000; Frattini et al, 1994; Hakim, 2010; Masterson et al, 1998; Sedman et al, 1998).

Gen E2 mengekspresikan lebih dari satu protein dengan panjang asam amino antara 370 – 430. Protein E2 berukuran 50 kDa dan mengandung aktifitas transkripsi dan domain binding DNA. Ujung karboksil E2 merupakan domain DNA binding yang berikatan dengan DNA dan berinteraksi dengan E1, sedangkan ujung amino mengandung domain transaktivasi. E2 meregulasi transkripsi dan replikasi karena dapat bertindak sebagai aktifator atau represor transkripsi. Protein yang dikode

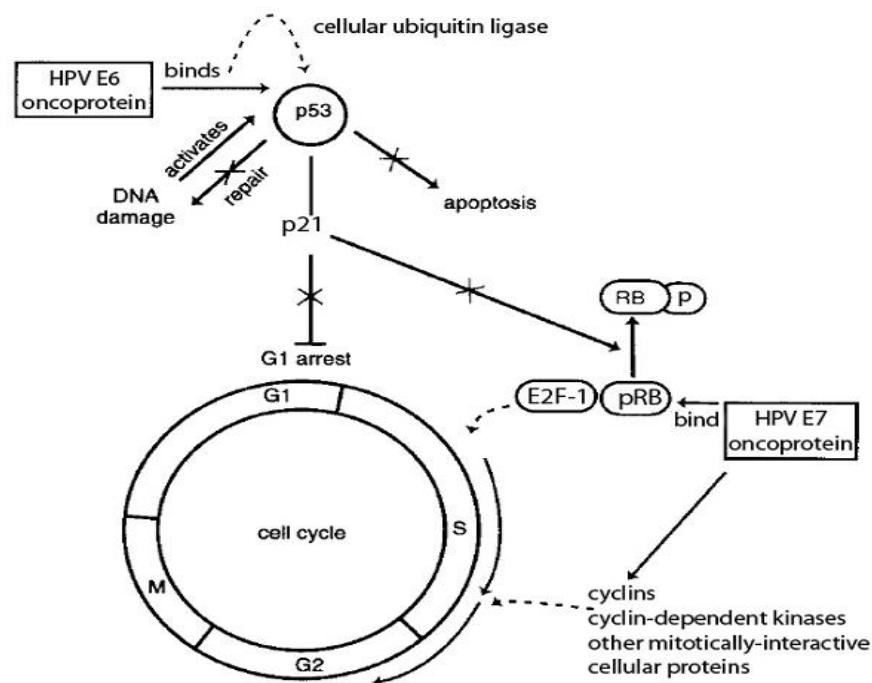
oleh gen E1 memfasilitasi ikatan protein E2 pada regio promotor.¹⁴ Pada kasus malignansi rasio E1/E2 berubah jika virus terintegrasi di kromosom sel pejamu dan hilangnya represi transkripsi E6 dan E7. Protein E2 juga berperan penting sebagai repressor ekspresi gen E6 dan E7. Protein E2 menekan transkripsi melalui ikatan pada E2 binding site di URR atau LCR. Protein E4 berkontribusi regulasi kontrol siklus sel pejamu. E4 diekspresikan saat replikasi virus dan terlibat dalam maturasi dan pelepasan partikel HPV. Gen E5 mengkode polipeptida dengan asam amino 44-48, namun demikian fungsinya masih belum jelas. Protein E5 kemungkinan membantu transformasi seluler dan replikasi virus. Protein E5 encode sebagai protein yang didapatkan pada apparatus golgi, retikulum endoplasmik dan dalam jumlah yang kecil terdapat di membran plasma. E5 kemungkinan juga berfungsi dalam meningkatkan respons proliferasi stimulus EGF (Hakim et al, 2010; Klumpp et al, 1999).

Protein E1^{E4} terjadi akibat translasi dari transkripsi E4 yang berfusi dengan 5 asam amino E1 yang menghasilkan protein fusi E1^{E4}. Protein E1^{E4} diekspresikan mendahului ekspresi L1 di lapisan atas epitel sehingga diperkirakan E1^{E4} berfungsi amplifikasi genom virus.

Onkoprotein E6 dan E7

E6 dan E7 diekspresikan sebagai poliprotein dengan panjang asam amino E6 151 dan E7 98 asam amino. E6 terletak di matriks nukleus dan membran non nuklear yang bersama-sama E7 dapat menyebabkan

imortalisasi keratinosit manusia. E6 dan E7 berperan penting dalam transformasi keganasan sel serviks (gambar 11).



Gambar 10. Patogenesis HPV onkogenik. HPV E6 dan E7 gen mengkode protein multifungsi yang berfungsi untuk mengikat p53 dan pRB, mengganggu fungsi mereka, dan mengubah jalur regulasi siklus sel, menyebabkan transformasi seluler (Burd, 2003).

Fungsi onkoprotein E6

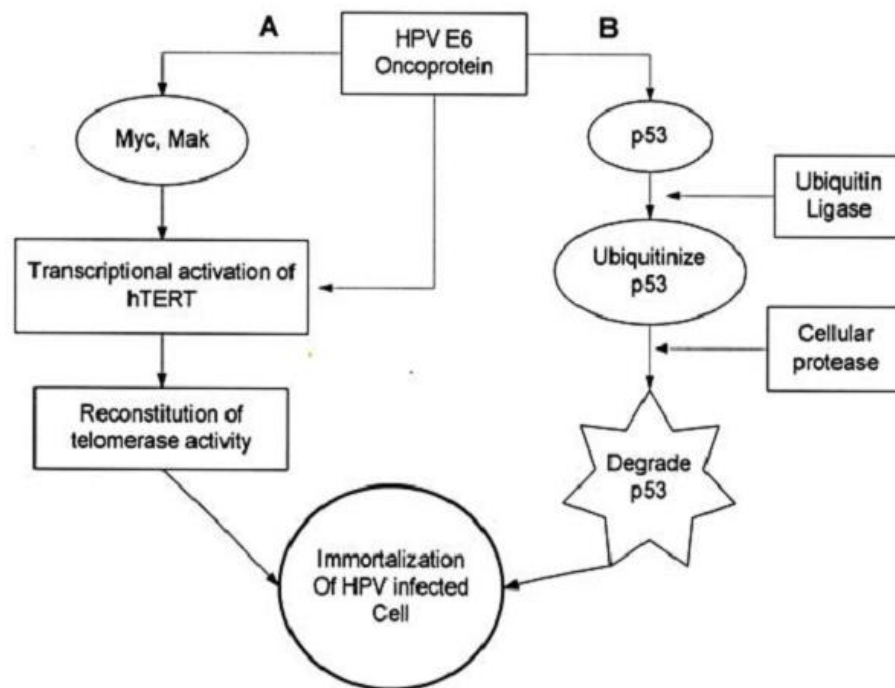
Protein E6 baik high-risk maupun low-risk diperkirakan terdiri dari 150 asam amino dan mengandung 2 domain *zinc-binding* dengan motif Cys-X-X-Cys. Protein E6 dapat mengikat lebih dari 12 protein dan didistribusikan baik pada nukleus maupun sitoplasma. Ekspresi E6 sendiri dapat menyebabkan transformasi sel epitel imortal namun demikian transformasi yang efisien membutuhkan ekspresi kedua protein E6 dan E7 (Hakim, 2010; Hawley et al, 1989; Zur, 2002).

E6 mempunyai kemampuan yang khas mampu berikatan dengan p53 (gambar 12).p53 yaitu protein yang termasuk supresor tumor yang meregulasi siklus sel baik pada G1/S maupun G2/M. Pada saat terjadi kerusakan DNA, p53 teraktifasi dan meningkatkan ekspresi p21, menghasilkan *cell arrest* atau apoptosis (Hakim, 2010; Ko, 1996; Werness, 1990)

Proses apoptosis ini juga merupakan cara pertahanan sel untuk mencegah penularan virus pada sel-sel didekatnya.Kebanyakan virus tumor menghalangi induksi apoptosis. E6 membentuk susunan kompleks dengan regulator p53 *seluler ubiquitin ligase* / E6AP yang meningkatkan degradasi p53. E6 juga menurunkan aktifitas p53 melalui CBP/p300, koaktifator p53. Inaktifasi p53 menghilangkan kontrol siklus sel, *arrest* dan apoptosis. Penurunan p53 menghalangi proses proapoptotik, sehingga terjadi peningkatan proliferasi (Hakim, 2010; Huibregtse et al, 1991; Longworth et al, 2004; Zimmermann et al, 1999).

E6 mempunyai fungsi lain yang penting yaitu mengaktifasi telomerase pada sel yang terinfeksi HPV.Pada keadaan normal replikasi DNA akan memperpendek telomere, namun bila ada E6, telomer akan tetap diperpanjang melalui aktifitas katalitik sub unit telomerase, *human reverse transcriptase* (hTERT). E6 membuat kompleks dengan Myc/Mac protein dan Sp-1 yang akan mengikat ensim hTERT di regio promoter dan menyebabkan peningkatan aktifitas telomerase sel. Sel tidak lagi

senescence tetapi terus berproliferasi atau immortalisasi (Hakim, 2010; Klingelutz et al, 1996; Nakamura et al, 1997; Veldman et al, 2003).



Gambar 11. *E6 dependent modulation of cell cycle* (Guanamony et al, 2007)

Fungsi E7 onkoprotein

Protein E7 merupakan HPV onkoprotein kedua yang berperan penting dalam patogenesis selain E6. Protein E7 baik dari HPV high-risk maupun low-risk mempunyai ukuran sekitar 100 asam amino dan terdapat terutama di nukleus. E7 berbeda dengan E6 yang tidak hanya dapat menyebabkan lesi displasia yang low-grade tetapi juga high-grade. Protein E7 mampu berikatan dengan famili Rb. Ikatan pRb dengan E7 pada high-risk lebih kuat afinitasnya dibanding low-risk, disebabkan oleh perbedaan susunan asam amino pada domain CR2 yang memediasi ikatan terhadap

Rb. Protein Rb famili berfungsi untuk mencegah perkembangan siklus sel yang berlebihan sampai sel siap membelah diri dengan baik. pRb yang tidak berfungsi menyebabkan proliferasi sel. pRb terikat dengan factor transkripsi E2F-DP. Protein Rb terdiri dari 3 protein Rb, p107 dan p120, dimana Rb diekspresikan sepanjang siklus sel, p107 disintesis terutama selama fase S, sedangkan p130 terutama saat G₀. pRb yang tidak difosforilasi membentuk kompleks dengan faktor transkripsi E2F/DP yang terikat dengan promotor gen yang terlibat dalam proses fase S yang mengakibatkan represi transkripsi. pRb yang berikatan dengan E7 melepaskan ikatannya dengan E2F-DP dan menyebabkan replikasi pada sel suprabasal. Ikatan pRb dengan E7 disertai dengan ekspresi cyclin D dan E serta *cyclin-dependent kinase* (cdk). E7 mengikat cyclin A dan E secara tidak langsung melalui p107 (Berezutskaya et al, 1997; Classon et al, 2001; Hakim, 2010; Jones et al, 1997; Riley et al, 2003)

E7 selain berikatan dengan pRb juga dapat berikatan dengan p27 dan p21 sehingga meningkatkan proliferasi sel. p21 dan p27 adalah *cdk-inhibitor* (cdk-I), maka bila berikatan dengan E2 dapat menghambat cdk-I dan meningkatkan aktifitas cdk. Kelompok ketiga yang dapat berikatan dengan E7 adalah *histone dacetylases* (HDACs). E7 dapat mengikat HDACs yang juga diikat oleh Rb, sehingga secara tidak langsung Rb terikat dengan E7 dan terjadi sel imortal. HDACs yang terikat dengan E7 juga dapat menyebabkan deasetilasi faktor transkripsi E2F sehingga menyebabkan relokasi faktor tersebut diluar nukleus. Kombinasi

mekanisme tersebut diatas mendorong transformasi malignansi sel serviks (Brehm et al, 1998; Hakim, 2010; Jones et al, 1997).

Late genes

Dua late gene L1 encode protein kapsid mayor dan L2 encode protein kapsid minor yang merupakan struktur protein virion. Kedua protein diekspresikan saat akhir siklus hidup virus pada sel suprabasal saat akhir diferensiasi. Monomer L1 sebanyak 360 disusun menjadi 72 struktur pentamer yang disebut kapsomere. Selama penyusunan virion, protein kapsid pertama kali disintesis didalam sitoplasma dan kemudian dibawa kedalam nukleus. Kapsomer L1 dibentuk di sitoplasma kemudian ditranslokasi melalui porus nukleus melalui perantara reseptor nuclear Kapa2 β 1. L2 secara terpisah ditranslokasikan ke nukleus melalui pengaruh *nuclear localisation signal* (NLS). Kemungkinan juga L2 membentuk kompleks dengan protein *chaperone* Hsc70 dan Psp40 yang diperlukan dalam proses translokasi ke nukleus. L2 dapat mengikat DNA dan lokalisasi domain ND10 sehingga dapat mengikat DNA virus yang baru replikasi dan menarik L1 untuk memicu pembentukan virus baru (Hakim, 2010; Darshan, 2004; Modis et al, 2002; Nelson et al, 2002).

HPV tipe high-risk memulai sebagian besar transkripsi melalui 2 promotor utama. Pertama adalah early promotor menginisiasi *upstream* dari E6 ORF dan mensintesis protein yang penting pada siklus sel virus. Early promotor HPV-16 adalah p97, HPV-31 adalah p99 dan HPV-18 adalah p105. Kedua adalah late promotor yang tergantung dari

diferensiasi sel sehingga teraktifasi saat virus tumbuh pada stratifikasi atau diferensiasi sel pejamu. Siklus sel virus sangat terkait dengan diferensiasi keratinosit (Hakim, 2010).

3. Patogenesis

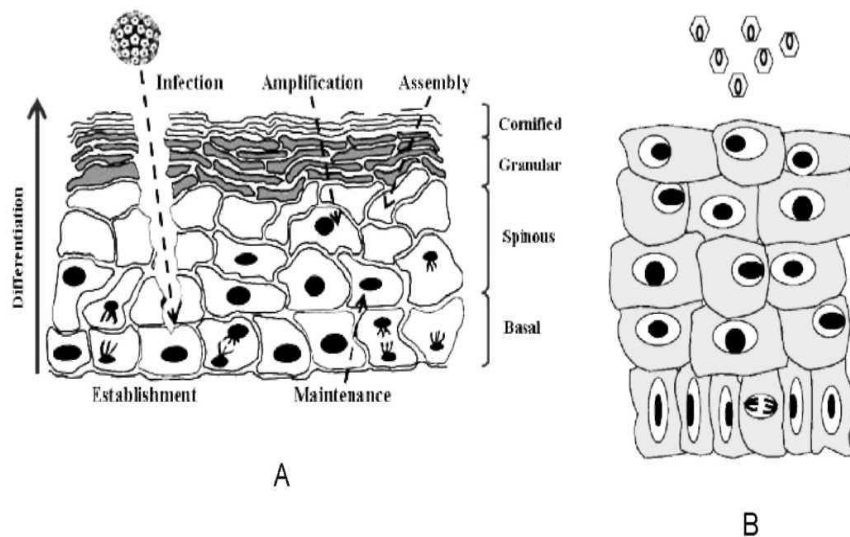
Petanda tumor / kanker adalah pembelahan sel yang tidak dapat dikontrol sehingga membentuk jaringan tumor, sehingga mekanisme pembelahan sel merupakan fokus penelitian. Ketaatan mekanisme pembelahan sel yang terdiri 4 fase yaitu G1, S, G2 dan M harus dijaga dengan baik. Selama fase S, terjadi replikasi DNA dan pada fase M terjadi pembelahan sel atau mitosis, sedangkan fase G (gap) berada sebelum fase S (sintesis) dan fase M (mitosis). Dalam siklus sel p53 dan pRb berperan penting, dimana p53 berpengaruh pada transisi G2-M dan juga transisi G1-S sedangkan pRb berpengaruh pada transisi G1-S. Mutasi yang menyebabkan inaktivasi fungsi p53 dan pRb menyebabkan proliferasi yang tidak dapat dikontrol (Hakim, 2010).

Infeksi dimulai dari virus yang masuk kedalam sel melalui mikro abrasi jaringan permukaan epitel, sehingga dimungkinkan sel masuk kedalam sel basal. Sel basal terutama sel stem terus membelah, bermigrasi mengisi sel bagian atas, berdiferensiasi dan mensintesis keratin. Protein virus pada infeksi HPV mengambil alih perkembangan siklus sel dan mengikuti diferensiasi sel. Saat ini masih kontroversi bagaimana mekanisme HPV masuk kedalam sel, sebagian bukti menunjukkan bahwa virus masuk kedalam sel melalui reseptor $\alpha 6$ -integrin

dan heparan sulfat serta laminin 5 dan kemudian internalisasi virion didalam sel melalui klattrin atau kaveola (Culp et al, 2004; Evander et al, 1997; Giroglu et al, 2001; Hakim, 2010; Yoon et al, 2001).

Secara terinci proses virion masuk dan proses masuk kedalam inti masih belum banyak diketahui, diduga ujung N (amino) L2 terpotong didalam kompartemen endosom melalui protease seluler, furin dan berikutnya melepaskan kompleks genom L2 kedalam sitosol. Genom L2 kemudian translokasi kedalam nukleus. Setelah berada dalam inti, maka kaskade ekspresi gen virus terus terjadi dan memproses kopi DNA virus dalam jumlah tertentu disetiap sel yang terinfeksi (Bousarghin et al, 2003; Hakim, 2010; Hindmarsh et al 2007).

Genom virus bermigrasi kedalam inti dalam bentuk episom dan terjadi aktivasi early HPV promoter. Sintesis virus DNA terjadi didalam sel yang terinfeksi dengan kopi episom sekitar 50-100 genom setiap sel. Setelah sel basal membelah, episom HPV mengalami replikasi dan didistribusikan diantara sel *daughter*. Virus akan mengikuti perjalanan sel dengan melakukan diferensiasi dan tetap aktif. Saat sel yang mengandung HPV berdiferensiasi, late promoter teraktivasi dan membentuk produk late gen, terbentuk kapsid dan terbentuk virion baru (gambar 13). Replikasi HPV tergantung dari proses sel pejamu dan sintesis DNA virus tetap berlangsung diseluruh strata atas epidermis.



Gambar 12. A. Virus masuk ke sel epidermis. B. Virus keluar dari sel epidermis (Conway et al, 2009)

C. Tinjauan Khusus Pemeriksaan Laboratorium

1. PCR (*Polymerase Chain Reaction*)

a. Definisi

Pada dekade terakhir ini telah dikembangkan teknik molekuler yang memungkinkan deteksi dan amplifikasi sejumlah kecil sekuens asam nukleat dari jaringan cairan tubuh. Metode amplifikasi tersebut dapat menghasilkan jutaan kopi sekuens target DNA atau RNA dalam waktu yang tidak lama dan hanya dalam hitungan jam (Sulistyaningsih, 2007).

Polymerase Chain Reaction (PCR) merupakan salah satu teknik amplifikasi asam nukleat *in vitro* yang paling banyak dipelajari dan digunakan secara luas (Putra, 1999). Metode ini pertama kali dikembangkan pada tahun 1985 oleh Kary B. Mullis, seorang peneliti di perusahaan CETUS Corporation. PCR merupakan suatu metode

enzimatis untuk melipatgandakan secara eksponensial suatu sekuen nukleotida tertentu secara *in vitro*. Metode ini telah banyak digunakan untuk berbagai macam manipulasi dan analisis genetik (Yuwono, 2006).

b. Prinsip Umum *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

PCR adalah suatu teknik yang melibatkan beberapa tahap yang berulang (siklus) dan pada setiap siklus terjadi duplikasi jumlah target DNA untai ganda. Untai ganda DNA templat (*unamplified DNA*) dipisahkan dengan denaturasi termal dan kemudian didinginkan hingga mencapai suatu suhu tertentu untuk memberi waktu pada primer menempel (*anneal primers*) pada daerah tertentu dari target DNA. Target DNA yang diinginkan (*short "target" product*) akan meningkat secara eksponensial setelah siklus keempat dan DNA non-target (*long product*) akan meningkat secara linier (Handoyo dan Rudiretna, 2000).

Menurut Yuwono (2006) proses PCR melibatkan banyak siklus yang masing-masing terdiri dari tiga tahap berurutan, yaitu;

a. Denaturasi (*Denaturation*)

Denaturasi DNA untuk siklus pertama dilakukan pada suhu 94 – 100°C selama 1 – 2 menit untuk memisahkan kedua rantai DNA genom sempurna melalui pemutusan ikatan hidrogen nukleotida, agar kedua pita DNA terpisah satu dengan yang lain sehingga terbentuk dua pita tunggal DNA sehingga kedua primer menempel setelah penurunan temperatur. Untuk siklus selanjutnya, denaturasi dilakukan pada temperatur 90 – 95°C,

tetapi optimasi perlu dilakukan untuk reaksi, thermocycler dan tabung reaksi yang berbeda.

b. Penempelan primer (Annealing)

Pada tahap ini temperatur diturunkan sampai 37 – 65°C selama 2 menit (tergantung primer yang digunakan) sehingga kedua primer menempel pada rantai DNA target dan tahap ini menentukan spesifitas PCR.

c. Pemanjangan (Elongasi)

Polimerase DNA mengkatalis penambahan nukleotida, biasanya dilakukan pada temperatur 70 – 75°C selama 3 menit. Enzim taq polymerase (enzim yang berperan dalam perpanjangan DNA) dapat bekerja secara optimal, guna melengkapi DNA pita tunggal menjadi pita ganda apabila berada pada temperatur optimum untuk taq polymerase. Lama tahap pemanjangan tergantung pada panjang DNA yang diamplifikasi. Seringkali tahap perpanjangan terakhir dilakukan lebih lama (sampai 10 menit) untuk menjamin agar semua molekul produk amplifikasi telah dipajangkan secara sempurna (Kornelius, 2012).

c. Komponen Utama *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

Komponen-komponen utama pada proses PCR adalah (1) DNA cetakan (*template*), (2) oligonukleotida primer, (3) deuksiribonukleotida trifosfat (dNP) dan (4) enzim polimerase. Komponen lain yang juga penting adalah senyawa buffer (Yuwono, 2006).

a. DNA cetakan (*template*)

Fungsi DNA templat di dalam proses PCR adalah sebagai cetakan untuk pembentukan molekul DNA baru yang sama. Templat DNA ini dapat berupa DNA kromosom, DNA plasmid ataupun fragmen DNA apapun asai di dalam DNA templat tersebut mengandung fragmen DNA target yang dituju. Penyiapan DNA templat untuk proses PCR dapat dilakukan dengan menggunakan metode lisis sel ataupun dengan cara melakukan isolasi DNA kromosom atau DNA plasmid dengan menggunakan metode standar yang ada. Pemilihan metode yang digunakan di dalam penyiapan DNA templat tergantung dari tujuan eksperimen (Handoyo dan Rudiretna, 2000).

b. Oligonukleotida primer

Dalam proses PCR, primer berfungsi sebagai pembatas fragmen DNA target yang akan diamplifikasi dan sekaligus menyediakan gugus hidroksi (-OH) pada ujung 3' yang diperlukan untuk proses eksistensi DNA. Perancangan primer dapat dilakukan berdasarkan urutan DNA yang telah diketahui ataupun dari urutan protein yang dituju. Data urutan DNA atau protein bisa didapatkan dari *database GenBank*. Apabila urutan DNA maupun urutan protein yang dituju belum diketahui maka perancangan primer dapat didasarkan pada hasil analisis homologi dari urutan DNA atau protein yang telah diketahui mempunyai hubungan kekerabatan yang terdekat (Handoyo dan Rudiretna, 2000).

c. Deoksiribonukleotida trifosfat (dNTP)

Deoksiribonukleotida trifosfat (dNTP) merupakan suatu campuran yang terdiri atas dATP (deoksiadenosin trifosfat), dTTP (deoksitimidin trifosfat), dCTP (deoksisitkjin trifosfat) dan dGTP (deoksiguanosin trifosfat). Dalam proses PCR dNTPs bertindak sebagai *building block* DNA yang diperlukan dalam proses ekstensi DNA. dNTP akan menempel pada gugus -OH pada ujung 3' dari primer membentuk untai baru yang komplementer dengan untai DNA templat. Konsentrasi optimal dNTPs untuk proses PCR harus ditentukan (Handoyo dan Rudiretna, 2000).

Konsentrasi dNTP yang rendah akan meminimalkan *mispriming* pada daerah non target dan menurunkan kemungkinan perpanjangan nukleotida yang salah, oleh karena itu spesifitas dan ketepatan PCR meningkat pada konsentrasi dNTP yang lebih rendah (Sulistyaningsih, 2007).

d. Enzim polimerase

Pada proses PCR enzim ini diperlukan untuk tahap ekstensi DNA. Enzim polimerase DNA berfungsi sebagai katalisis untuk reaksi polimerisasi DNA. Enzim polimerase DNA diisolasi dari bakteri termofilik atau hipertermofilik sehingga enzim ini bersifat iermostabil sampai temperatur 95°C. Dengan menggunakan teknik PCR, panjang fragmen DNA yang dapat diamplifikasi mencapai 35 kilo basa. Amplifikasi fragmen DNA pendek (kurang dari tiga kilo basa) relatif lebih mudah dilakukan. Untuk mengamplifikasi fragmen DNA panjang (lebih besar dari tiga kilo

basa) memerlukan beberapa kondisi khusus, di antaranya adalah diperlukan polimerase DNA dengan aktivitas yang kuat dan juga buffer PCR dengan pH dan kapasitas tinggi (High-salt buffer) (Handoyo dan Rudiretna, 2000).

e. Buffer

Reaksi PCR hanya akan berlangsung pada kondisi pH tertentu. Oleh karena itu untuk melakukan proses PCR diperlukan buffer PCR. Fungsi buffer adalah untuk menjamin pH medium. Selain buffer PCR diperlukan juga adanya ion Mg^{2+} , ion tersebut berasal dari $MgCl_2$. $MgCl_2$ bertindak sebagai kofaktor yang berfungsi menstimulasi aktivitas (senyawa DNA polimerase). Dengan adanya $MgCl_2$ ini akan meningkatkan interaksi primer dengan templat yang membentuk kompleks larut dengan dNTP antara). Dalam proses PCR konsentrasi $MgCl_2$ berpengaruh pada spesifisitas dan perolehan proses (Handoyo dan Rudiretna, 2000).

2. LINEAR ARRAY GENOTYPING TEST

Teknik ini adalah salah satu teknik terbaru di dunia molekuler untuk mendeteksi HPV, yang merupakan kombinasi antara teknik PCR dan hibridisasi. Kelebihan teknik ini adalah dapat mendeteksi 37 genotipe HPV tipe *low* dan *high risks* yang menginfeksi dalam satu kali pemeriksaan. Ke-37 genotipe HPV yaitu 6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 40, 42, 45, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 58, 59, 61, 62, 64, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 81, 82, 83, 84, IS39 and CP6108 (Steinau et al, 2012; Van den et al, 2002).

Prinsip kerja *LINEAR ARRAY* terbagi menjadi empat tahapan. Tahap pertama ekstraksi DNA dari sampel menggunakan kit *QIAAMP DNA mini* (*Qiagen*), ekstraksi dimulai dengan melisis sel menggunakan buffer AL, merusak protein dengan Proteinase K, merusak RNA dengan RNase sehingga akan diperoleh DNA yang diinginkan (Novel et al, 2009; Van et al, 2002; Van et al, 2006).

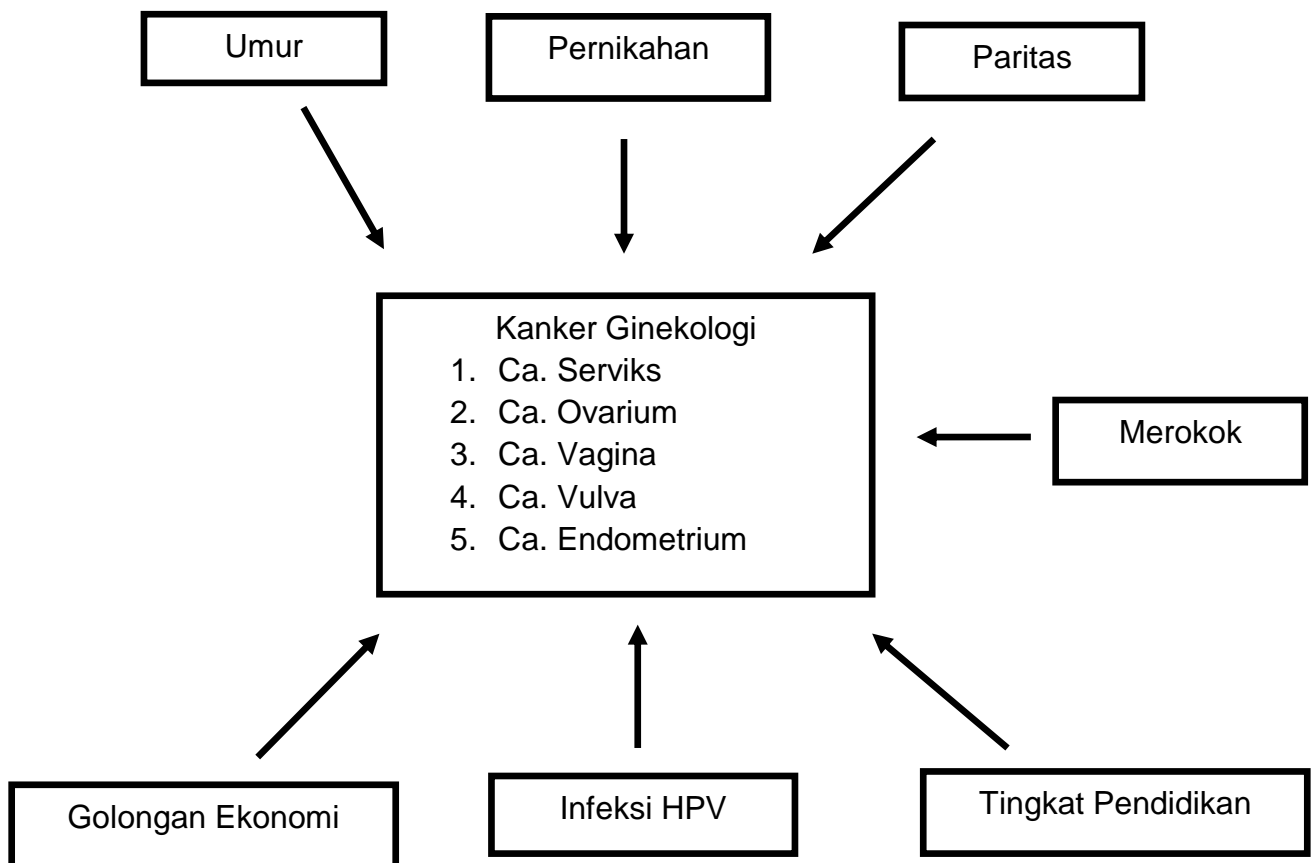
Tahap kedua yaitu amplifikasi DNA menggunakan alat *DNA thermal cycler*. Prinsip dasar PCR pada metode PRELIB adalah enzim *AmpliTaq* Glod DNA polymerase memperbanyak sekuen spesifik yang dimulai dengan pelekatan primer dan menyatukan dNTP – dNTP yang berlangsung dalam reaksi termal. Proses pra-denaturasi dan denaturasi DNA membutuhkan suhu 95⁰ C, penempelan atau annealing membutuhkan suhu 55⁰ C. Proses elongasi membutuhkan suhu 72⁰C (Bartlett et al, 1999; Brown, 1995; Novel et al, 2009; Yuwono, 2006; Van et al, 2002; Van et al, 2006).

Tahap ketiga yaitu hibridisasi DNA, pada proses ini diperlukan sejumlah DNA untai tunggal sehingga DNA hasil amplifikasi harus didenaturasi menjadi DNA untai tunggal. Salah satu perlakuan untuk memecah ikatan hidrogen antar basa nitrogen adalah dengan penambahan senyawa alkali seperti NaOH yang terdapat pada larutan pendenaturasi. Hibridisasi asam nukleat mempunyai dua unsur utama yaitu DNA target dan pelacak. DNA target yaitu DNA yang telah terdenaturasi. Pelacak yang digunakan memiliki urutan spesifik untuk 14

genotipe HPV (Novel et al, 2009; Sudjadi, 2008; Yuwono, 2005; Van et al, 2006).

Pada tahap ke empat, prinsipnya DNA akan berikatan dengan pelacak yang menempel pada membran nilon bermuatan. DNA sudah diberi label biotin sehingga ikatan antara pelacak dan DNA akan terdeteksi dan menghasilkan sinyal. Sinyal tersebut akan ditangkap oleh streptavidin-horseradish peroxidase menandakan bahwa ikatan pelacak dan DNA berhasil. Streptavidin-horseradish peroxidase akan berikatan dengan H_2O_2 dan TMB (Tetramethylbenzine), dan menghasilkan *line blot* yang dibaca pada ruang gelap (Bartlett et al, 1999; Novel et al, 2009; Sudjadi, 2008).

D. Kerangka Teori

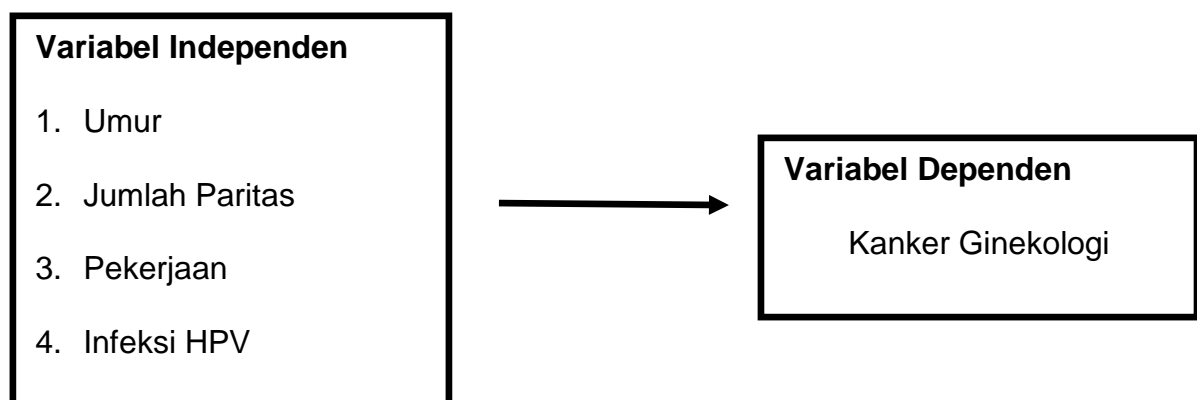


E. Hipotesis

1. Ada hubungan antara usia dengan kejadian kanker ginekologi.
2. Ada hubungan antara jumlah anak dengan kejadian kanker ginekologi.
3. Ada hubungan antara sosial ekonomi dengan kejadian kanker ginekologi.
4. Ada hubungan antara infeksi HPV dengan kanker ginekologi.

5. Kerangka Konsep

Kerangka konsep pada penelitian ini merupakan kerangka dari variabel-variabel kerangka teori yang akan diteliti dan menerangkan hubungan variabel-variabel yang berhubungan dengan kanker ginekologi.



Gambar 16. Kerangka konsep hubungan umur, jumlah paritas, pekerjaan, infeksi HPV dengan Kanker ginekologi

Berdasarkan bagan diatas variabel independen adalah umur, jumlah paritas, pekerjaan, Infeksi HPV. Variabel dependen adalah kanker ginekologi.

6. Definisi Operasional

a. Variabel Dependen

1. Kanker ginekologi

- **Definisi operasional**

Kasus : Wanita yang didiagnosa mengalami Ca. serviks, Ca. vagina, Ca. vulva, Ca. ovarium, Ca. endometrium, Tropohlas ganas, Neoplasma ovarium susp. ganas, Tumor adnexa susp. ganas.

Kontrol : Wanita yang didiagnosa mengalami kelainan ginekologi selain kanker ginekologi, dan wanita yang tidak mengalami kelainan ginekologi.

- **Cara ukur**

Dikategorikan berdasarkan hasil pap smear dan biopsi

- **Hasil ukur**

1 = Kasus

2 = Kontrol

- **Skala ukur**

Nominal

b. Variabel Independen

1. Umur

- **Definisi operasional**

Tahun hidup pasien pada saat berkunjung ke rumah sakit atau klinik

- **Cara ukur**

Dihitung dari tahun pasien lahir sampai tahun pasien berkunjung ke rumah sakit atau klinik.

- **Hasil ukur**

1 = < 35 tahun (tidak beresiko kanker ginekologi)

2 = \geq 35 tahun (beresiko kanker ginekologi)

- **Skala ukur**

Nominal

2. Jumlah Paritas

- **Definisi operasional**

Jumlah seluruh Kelahiran bayi hidup yang pernah dialami oleh pasien yang dihitung dari jumlah kelahiran anak pertama sampai kelahiran anak terakhir

- **Cara ukur**

Berdasarkan catatan rekam medis rumah sakit atau klinik

- **Hasil ukur**

1 = \geq 3

2 = 0 - 2

- **Skala ukur**

Nominal

3. Pekerjaan

- **Definisi operasional**

Sesuatu yang dilakukan oleh manusia untuk tujuan tertentu yang dilakukan dengan cara yang baik dan benar.

- **Cara ukur**

Berdasarkan catatan rekam medis rumah sakit atau klinik

- **Hasil ukur**

1 = IRT

2 = PNS

3 = Swasta / Wiraswasta

- **Skala ukur**

Nominal

4. Infeksi HPV

- **Definisi operasional**

Suatu infeksi yang disebabkan oleh *Human papillomavirus*

- **Cara ukur**

Menggunakan metode PCR

- **Hasil ukur**

1 = positif

2 = negatif

- **Skala ukur**

Nominal

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan studi *cross-sectional* untuk melihat hubungan umur, jumlah anak, pekerjaan dan infeksi *human papillomavirus* terhadap kejadian kanker ginekologi pada wanita dengan kelainan ginekologi di Makassar.

B. Waktu dan Lokasi Penelitian

1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Maret 2014 sampai selesai. Pengumpulan sampel dilakukan di Rumah Sakit Wahidin, Klinik Jasfira, Klinik Dan Rumah Bersalin Restu di Makassar selanjutnya dilakukan pengujian sampel di Universitas Indonesia Fakultas Kedokteran bagian Mikrobiologi.

2. Alat dan Bahan Penelitian

a. Alat Penelitian

Mikropipet, rak tabung eppendorf, vortex, biosafety cabinet, timer, sentrifuge (Profuge), mesin PCR (GeneAmp PCR System 9700, Applied Biosystems, Foster City, CA, USA), Inkubator, Inkubator Shaker, Vacuum, Oven, Tray, Alat elektroforesis

b. Bahan Penelitian

Tabung falcon 15 mL, *Phosphat Buffer Saline* (PBS) 1x, Reagen PCR (dNTPs, MgCl₂, PCR buffer HotStar (QIAGEN,), Rnase-free ddH₂O, HotStar DNA polymerase, pasangan primer (β -globin gene dan HPV), probe HPV, template DNA, tabung PCR 200 μ l, tabung eppendorf 1,5 ml, QIAamp® DNA kit (QIAGEN, Hilden, Germany), TIAGEN® DNA kit, parafilm, 10x SSPE, Denhardt 50x, SDS 10%, NaOH, Aquabidest, ECL, Reagen *Linear array HPV genotyping test* (HPV Mg²⁺ (< 1% Magnesium chloride, Amaranth dye, 0.05% Sodium azide), HPV MMX (Tris buffer, Potassium chloride, < 0.02% AmpliTaq Gold DNA Polymerase (microbial), < 0.1% AmpErase (uracil-N-glycosylase) enzyme (microbial), < 0.001% dATP, dCTP, dUTP, dGTP, dTTP, < 0.001% *Each of upstream and downstream primers* (biotinylated), 0.06% Sodium azide)), Reagen *Linear array HPV detection kit* (DN (Denaturation Solution), SDS (SDS Concentrate 20%), SSPE (SSPE Concentrate 20x), CIT (Citrate Concentrate 20%), SA-HRP (Streptavidin Conjugate Solution), SUB A (Substrate A), SUB B (Substrate B)).

Tabel 5. Sekuen Primer dan probe

β - globin gene	F	5'- AAG AGC CAA GGA CAG GTA -3'
	R	5'- AACTTCATCCACGTTTAC -3'
<i>Human papillomavirus</i> (L1 gene)	F (GP 5+)	5'- TTT GTT ACT GTG GTA GAT ACT AC -3'
	R (GP 6+)	5'- GAA AAA TAA ACT GTA AAT CAT ATT -3'
Probe HPV 16		5'- ACT ACA CTA CAC TAC GTC ATT ATG TGC TGC CAT

(L1 gene)	ATC TAC TTC AGA ACT AC -3'
Probe HPV 18 (L1 gene)	5'- ACT ACA CTA CAC TAC TGC TTC TAC ACA GTC TCC TGT ACC TGG GCA ACT AC -3'
Probe HPV 31 (L1 gene)	5'- ACT ACA CTA CAC TAC TGT TTG TGC TGC AAT TGC AAA CAG TGA TAC ACT AC -3'
Probe HPV 33 (L1 gene)	5'- ACT ACA CTA CAC TAC TTT ATG CAC ACA AGT AAC TAG TGA CAG TAC ACT AC -3'
Probe HPV 35 (L1 gene)	5'- ACT ACA CTA CAC TAC GTC TGT GTG TTC TGC TGT GTC TTC TAG TGA ACT AC -3'
Probe HPV 39 (L1 gene)	5'- ACT ACA CTA CAC TAC TCT ACC TCT ATA GAG TCT TCC ATA CCT TCT ACT AC -3'
Probe HPV 45 (L1 gene)	5'- ACT ACA CTA CAC TAC ACA CAA AAT CCT GTG CCA AGT ACA TAT GAC ACT AC -3'
Probe HPV 51 (L1 gene)	5'- ACT ACA CTA CAC TAC AGC ACT GCC ACT GCT GCG GTT TCC CCA ACA ACT AC -3'
Probe HPV 52 (L1 gene)	5'- ACT ACA CTA CAC TAC TGC TGA GGT TAA AAA GGA AAG CAC ATA TAA ACT AC -3'
Probe HPV 56 (L1 gene)	5'- ACT ACA CTA CAC TAC GTA CTG CTA CAG AAC AGT TAA GTA AAT ATG ACT AC -3'
Probe HPV 58 (L1 gene)	5'- ACT ACA CTA CAC TAC ATT ATG CAC TGA AGT AAC TAA GGA AGG TAC ACT AC -3'
Probe HPV 59 (L1 gene)	5'- ACT ACA CTA CAC TAC TCT ACT ACT GCT TCT ATT CCT AAT GTA TAC ACT AC -3'
Probe HPV 66 (L1 gene)	5'- ACT ACA CTA CAC TAC TAT TAA TGC AGC TAA AAG CAC ATT AAC TAA ACT AC -3'
Probe HPV 68 (L1 gene)	5'- ACT ACA CTA CAC TAC TCT ACT ACT ACT GAA TCA GCT GTA CCA AAT ACT AC -3'
Probe Globin (L1 gene)	5'- ACT ACA CTA CAC TAC CAC AAC TGT GTT CAC TAG CAA CCT CAA ACT AC -3'

C. Populasi dan Sampel Penelitian

1. Populasi Penelitian

Populasi penelitian ini adalah wanitayang melakukan pap smear dan biopsi yang berkunjung ke Rumah Sakit Wahidin dan wanita yang melakukan pap smear di Rumah Bersalin Restu, Klinik PA, dan klinik jafira di Makassar.

2. Sampel Penelitian

Sampel penelitian ini adalah swab serviks dan biopsi jaringan kemudian disimpan pada suhu -80°C . Besarnya sampel adalah 143 sampel.

3. Kriteria Sampel

a. Kriteria Inklusi

1. Wanita
2. Bersedia ikut dalam penelitian ini dengan menandatangani *inform consent*.

b. Kriteria Eksklusi

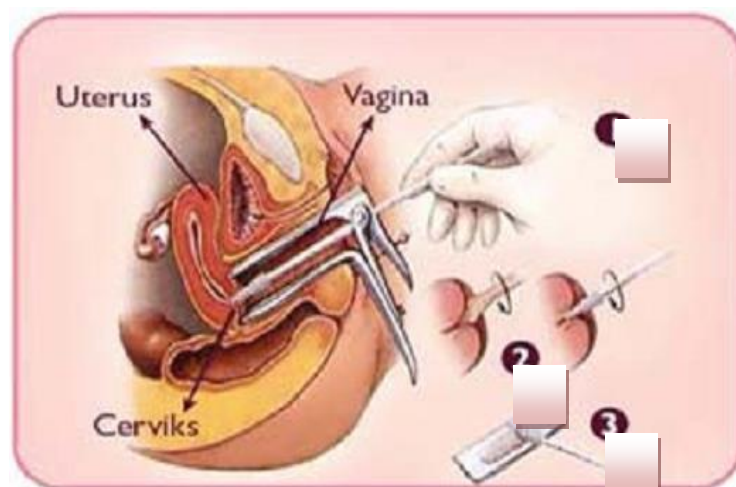
1. Wanita yang hamil
2. Wanita yang belum menikah

D. Prosedur Kerja

1. Penanganan Sampel

a. Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel swab serviks menggunakan *cytobrush*. Pasien dalam posisi litotomi lalu dipasang speculum vagina, kemudian dilakukan swab serviks, kemudian swab dimasukkan ke dalam tabung 15 mL yang mengandung 1,5 mL 1x Phosphat Buffer Saline (PBS).



Gambar 13. Cara pengambilan swab serviks (www.kankerserviks.com)

b. Penyimpanan Sampel

Sampel yang diperoleh disimpan pada suhu -80°C , sampai sampel mencukupi. Sampel yang berada pada falcon 15 ml kemudian divortex, sampel dipindahkan ke *microcentrifuge tube* 1,5 mL, tube 1 sebanyak 400 μL untuk digunakan ke tahap ekstraksi, tube 2 sebanyak 1100 μL untuk stok sampel. Sampel kemudian disimpan pada suhu -80°C .

2. Deteksi *Human Papilloma Virus*

a. Ekstraksi DNA dengan Tiagen DNA mini kit

Sampel DNA diperoleh dari swab serviks. Ekstraksi DNA dilakukan sesuai dengan prosedur dari Tiagen® DNA kit. Sebanyak 400 µL sampel dimasukkan ke dalam tabung mikro berukuran 1,5 mL, kemudian disentrifugasi selama 2 menit dengan kecepatan 12000 rpm selama 2 menit, pipet sampel sebanyak 200 µL lalu buang, kemudian vortex dan spin, tambahkan proteinase K sebanyak 20 µL, buffer GB sebanyak 200 µL lalu vortex dan spin, kemudian inkubasi pada suhu 56°C selama 15 menit, lalu inkubasi lagi pada suhu 100°C selama 10 menit, spin kemudian biarkan pada suhu ruangan selama 10 menit, tambahkan carrier RNA sebanyak 6 µL kemudian divortex selama 5 – 10 detik dan spin, lalu diinkubasi pada suhu 56°C selama 15 menit setelah itu di spin selama 5 – 10 detik. Selanjutnya, larutan tersebut ditambahkan ethanol absolute (96-100%) sebanyak 250 µL dan divortex lagi selama 5 – 10 detik lalu di spin, kemudian diinkubasi pada suhu ruangan selama 15 menit. Pindahkan larutan tersebut dengan cara dipipet ke *RNAse – free spin column* sebanyak 600 µL dan diletakkan pada *collection tube* berukuran 2 ml, sentrifugasi dengan kecepatan 12000 rpm selama 1 menit kemudian pindahkan kembali *RNAse – free spin column* pada *collection tube* yang baru, pipet sisa sampel ke *RNAse – free spin column*, sentrifugasi dengan kecepatan 12000 rpm selama 1 menit kemudian pindahkan kembali *RNAse – free spin column* pada *collection tube* yang baru, tambahkan

buffer GD sebanyak 500 μ L dan disentrifugasi kembali dengan kecepatan 12000 rpm selama 1 menit. Setelah disentrifugasi *RNAse – free spin column* kembali dipindahkan pada *collection tube* yang baru dan ditambahkan buffer PW sebanyak 600 μ L dan disentrifugasi kembali dengan kecepatan 12.000 rpm selama 2 menit. Setelah disentrifugasi *RNAse – free spin column* kembali dipindahkan pada *collection tube* yang baru dan ditambahkan ethanol absolute (96-100%) sebanyak 500 μ L dan disentrifugasi kembali dengan kecepatan 12.000 rpm selama 3 menit. Setelah disentrifugasi *RNAse – free spin column* kembali dipindahkan pada *collection tube* yang baru dan disentrifugasi kembali dengan kecepatan 12.000 rpm selama 1 menit untuk mengeringkan. Pisahkan cairan dengan *collection tube*. Letakkan *RNAse – free spin column* pada eppendorf steril berukuran 1,5 mL, sebanyak 60 μ L larutan *RNAse – free ddH₂O* ditambahkan ke dalam tabung eppendorf tersebut, kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 5 menit dan sentrifugasi selama 2 menit dengan kecepatan 12000 rpm untuk mengelusi DNA keluar dari column. Larutan yang terbentuk dibawah merupakan DNA yang siap untuk dilakukan pengujian. DNA yang diperoleh disimpan pada suhu -30°C.

b. Ekstraksi DNA dengan Qiagen DNA mini kit

Sampel DNA diperoleh dari swab serviks. Ekstraksi DNA dilakukan sesuai dengan prosedur dari QIAamp® DNA kit (QIAGEN, Hilden, Germany). Sebanyak 400 μ L sampel dimasukkan ke dalam tabung mikro berukuran 1,5 mL dan ditambahkan proteinase K sebanyak 20 μ L, buffer

AL sebanyak 400 μ L, dan carrier RNA sebanyak 6 μ L kemudian divortex selama 5 – 10 detik dan spin, lalu diinkubasi pada suhu 56°C selama 10 menit setelah itu di spin selama 5 – 10 detik. Selanjutnya, larutan tersebut ditambahkan ethanol absolute (96-100%) sebanyak 400 μ L dan divortex lagi selama 5 – 10 detik lalu di spin. Pindahkan larutan tersebut dengan cara dipipet ke QIAamp DNA Mini spin *column* sebanyak 600 μ L dan diletakkan pada *collection tube* berukuran 2 ml, sentrifugasi dengan kecepatan 12000 rpm selama 1 menit kemudian pindahkan kembali QIAamp DNA Mini spin *column* pada *collection tube* yang baru, pipet sisa sampel ke QIAamp DNA Mini spin *column*, sentrifugasi dengan kecepatan 12000 rpm selama 1 menit kemudian pindahkan kembali QIAamp DNA Mini spin *column* pada *collection tube* yang baru, tambahkan 500 μ l buffer AW1 dan disentrifugasi kembali dengan kecepatan 12000 rpm selama 1 menit. Setelah disentrifugasi QIAamp DNA Mini spin *column* kembali dipindahkan pada *collection tube* yang baru dan ditambahkan 500 μ l buffer AW2 dan disentrifugasi kembali dengan kecepatan 12.000 rpm selama 3 menit. Setelah disentrifugasi QIAamp DNA Mini spin *column* kembali dipindahkan pada *collection tube* yang baru dan disentrifugasi kembali dengan kecepatan 12.000 rpm selama 1 menit untuk mengeringkan. Pisahkan cairan dengan *collection tube*. Letakkan QIAamp DNA Mini spin *column* pada eppendorf steril berukuran 1,5 mL, sebanyak 60 μ L larutan buffer AE ditambahkan ke dalam tabung eppendorf tersebut, kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 5 menit dan sentrifugasi

selama 2 menit dengan kecepatan 12000 rpm untuk meluluskan DNA keluar dari column. Larutan yang terbentuk dibawah merupakan DNA yang siap untuk dilakukan pengujian. DNA yang diperoleh disimpan pada suhu -30°C.

c. Amplifikasi DNA untuk mendeteksi β – globin gen

Proses PCR menggunakan GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystem, USA) dengan volume reaksi 25 μ L yang mengandung 10x PCR buffer HotStar (2.5 μ L), 25 mM MgCl₂ (0.375 μ L), 10 μ M dNTP mix (0.5 μ L), 5xQ solution (5 μ L), 10 μ M primer mix globin (1,1 μ L), HotStar DNA polymerase (0.125 μ L), Destilate water dan DNA hasil ekstrasi sebanyak 5 μ L. Tahapan siklus PCR, denaturasi, *annealing* dan ekstensi, dilakukan pada suhu 94°C, 40°C dan 72°C, dengan 40 siklus

d. Amplifikasi DNA untuk mendeteksi HPV (L1) gen

Proses PCR menggunakan GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystem, USA) dengan volume reaksi 25 μ L yang mengandung 10x PCR buffer HotStar (2.5 μ L), 25 mM MgCl₂ (0.375 μ L), 10 μ M dNTP mix (0.5 μ L), 5xQ solution (5 μ L), 10 μ M primer mix GP (1,1 μ L), HotStar DNA polymerase (0.125 μ L), Destilate water dan DNA hasil ekstrasi sebanyak 5 μ L. Tahapan siklus PCR, denaturasi, *annealing* dan ekstensi, dilakukan pada suhu 94°C, 40°C dan 72°C, dengan 40 siklus

e. Elektroforesis Gel dengan Agarose 1,5 %

Untuk mengetahui hasil amplifikasi DNA β – globin dilanjutkan ke proses elektroforesis gel dengan agarose 1,5%. Proses dimulai dengan menyiapkan agarose 1,5% dengan melarutkan agarose sebanyak 1.5 gram ke dalam TAE 1x 100 mL, dipanaskan selama 2 menit hingga larut dan bening, kemudian cetak dicetakan, biarkan hingga gel membeku, lalu angkat sisirnya sehingga terbentuklah sumur-sumur gel bekas sisir. Gel agarosa bersama cetakannya diangkat dan dipasang ke dalam perangkat elektroforesis (BioRad, USA). Buffer TAE 1x kemudian dituang ke dalam tangki elektroforesis hingga menutupi permukaan atas gel. Ke dalam masing-masing sumur, dimasukkan 10 μ L produk PCR setelah dicampur dengan 2 μ L larutan *loading dye*. Pada salah satu sumur dimasukkan 5 μ L marker (100bp) sebagai standar ukuran DNA. Perangkat elektroforesis dijalankan dengan memberi aliran listrik pada tegangan 50 Volt (V) selama 30 menit, kemudian dipindahkan pada tegangan 100 Volt (V) selama 30 menit.

Setelah proses elektroforesis gel agarosa selesai, gel dimasukkan ke dalam larutan ethidium bromide untuk diwarnai selama 30 menit, lalu gel dimasukkan ke dalam perangkat Gel Doc XR (Biorad, USA) dengan melepaskan gel dari cetakannya. Gel dipapar oleh sinar ultraviolet (UV). Gambar gel yang terbentuk di bawah sinar UV lalu didokumentasikan. DNA yang berikatan dengan ethidium bromide akan berpendar di bawah

paparan sinar UV. Hasil positif ditunjukkan apabila ada pendaran pita DNA yang ukurannya sesuai dengan ukuran produk PCR yang diharapkan.

f. Elektroforesis gel dengan Polyacrilamid 9%

Untuk mengetahui hasil amplifikasi DNA HPV dilanjutkan ke proses elektroforesis gel dengan polyacrilamid 9%. Proses dimulai dengan menyiapkan polyacrilamid 9% dengan mencampur ddH₂O sebanyak 2990 µL, acrilamid 30% sebanyak 1510 µL, TBE 10x sebanyak 500 µL, APS 10% sebanyak 30 µL, Temed sebanyak 5 µL, kemudian cetak dicetakan, biarkan hingga gel membeku, lalu angkat sisirnya sehingga terbentuklah sumur-sumur gel bekas sisir. Gel bersama cetakan diangkat dan dipasang ke dalam perangkat elektroforesis (BioRad, USA). Buffer TBE 1x kemudian dituang ke dalam tangki elektroforesis hingga mencapai batasan buffer. Ke dalam masing-masing sumur, dimasukkan 10 µL produk PCR setelah dicampur dengan 2 µL larutan *loading dye*. Pada salah satu sumur dimasukkan 5 µL marker (100bp) sebagai standar ukuran DNA. Perangkat elektroforesis dijalankan dengan memberi aliran listrik pada tegangan 100 Volt (V) selama 1,2 jam.

Setelah proses elektroforesis selesai, gel dimasukkan ke dalam larutan ethidium bromide untuk diwarnai selama 30 menit, lalu gel dimasukkan ke dalam perangkat Gel Doc XR (Biorad, USA) dengan melepaskan gel dari cetakannya. Gel dipapar oleh sinar ultraviolet (UV). Gambar gel yang terbentuk di bawah sinar UV lalu didokumentasikan. DNA yang berikatan dengan ethidium bromide akan

berpendar di bawah paparan sinar UV. Hasil positif ditunjukkan apabila ada pendaran pita DNA yang ukurannya sesuai dengan ukuran produk PCR yang diharapkan.

3. Genotyping Human papillomavirus

a. Linear Array Genotyping test

1. Amplifikasi DNA

Proses PCR menggunakan GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystem, USA) dengan volume reaksi 100 μ L yang mengandung HPV Mg^{2+} sebanyak 10.41 μ L, HPV MMX sebanyak 48.33 μ L, Destilate water sebanyak 40 μ L dan DNA hasil ekstraksi sebanyak 10 μ L. Tahapan siklus PCR, pra denaturasi, denaturasi, *annealing*, ekstensi, dan ekstensi akhir dilakukan pada suhu 50°C, 95°C, 95°C, 55°C, 72°C dan 72°C, dengan 40 siklus.

Hasil produk PCR ditambahkan larutan denaturasi sebanyak 100 μ L, kemudian diinferting, dan disimpan pada suhu -20°C, produk PCR akan bertahan selama 7 hari.

2. Pembuatan Buffer

a. Pembuatan Buffer Hybridization

Sebelum pembuatan buffer, SSPE dan SDS dipanaskan terlebih dahulu pada suhu 53°C selama 30 menit. Pembuatan buffer dimulai dengan menambahkan SSPE sebanyak 100 mL kedalam 388 mL

deionized water, homogenkan, kemudian tambahkan SDS sebanyak 12,5 mL, homogenkan. Buffer dapat digunakan untuk 100 strips.

b. Pembuatan Buffer Ambient

Sebelum pembuatan buffer, SSPE dan SDS dipanaskan terlebih dahulu pada suhu 53°C selama 30 menit. Pembuatan buffer dimulai dengan menambahkan SSPE sebanyak 133 mL kedalam 2520 mL deionized water, homogenkan, kemudian tambahkan SDS sebanyak 13,3 mL, homogenkan. Buffer dapat digunakan untuk 100 strips.

c. Pembuatan Buffer Stringent

Pembuatan buffer dimulai dengan memindahkan 5 mL buffer Ambient (untuk 1 strip)

d. Pembuatan Buffer Citrat

Sebelum pembuatan buffer, CIT dipanaskan terlebih dahulu pada suhu 53°C selama 30 menit. Pembuatan buffer dimulai dengan menambahkan CIT sebanyak 25 mL kedalam 425 mL deionized water, homogenkan. Buffer dapat digunakan untuk 100 strips.

e. Pembuatan Buffer Conjugate

Pembuatan Buffer Conjugate dimulai dengan menambahkan SA-HRP sebanyak 15 μ L kedalam Buffer Ambient sebanyak 5 mL, homogenkan (untuk 1 strip), buffer harus dibuat *fresh*.

f. Pembuatan Buffer Substrak

Pembuatan Buffer Substrak dimulai dengan menambahkan SUB A sebanyak 4 mL kedalam Buffer SUB B sebanyak 1 mL, homogenkan (untuk 1 strip), buffer harus dibuat *fresh*.

3. Hibridisasi

Hasil amplifikasi PCR dilanjutkan ke tahap Hibridisasi. Tahap ini dimulai dengan memanaskan larutan hybridization dan larutan stringent pada suhu 53°C selama 30 menit, kemudian disimpan sampai digunakan pada suhu 53°C selanjutnya masukkan strip ke dalam tray, kemudian ditambahkan larutan hybridization sebanyak 5 mL, selanjutnya ditambahkan produk PCR sebanyak 75 µL, setiap penambahan produk PCR, tray digoyangkan lalu diinkubasi pada inkubator goyang selama 30 menit pada suhu 53°C dengan kecepatan 60 rpm, kemudian larutan Hybridization dibuang menggunakan vacuum lalu membran dicuci dengan larutan ambient sebanyak 5 mL, kemudian digoyangkan sebanyak 3 – 4 kali, lalu larutan ambient dibuang, selanjutnya strip dicuci dengan larutan stringent sebanyak 5 mL, kemudian diinkubasi pada inkubator goyang selama 15 menit pada suhu 53°C dengan kecepatan 60 rpm, larutan stringent dibuang kemudian strip dicuci menggunakan larutan conjugate sebanyak 5 mL, lalu diinkubasi pada inkubator goyang selama 30 menit pada suhu ruangan dengan kecepatan 60 rpm, kemudian larutan dibuang, selanjutnya strip dicuci dengan larutan ambient sebanyak 5 mL, kemudian digoyangkan sebanyak 3-5 kali, lalu larutan dibuang, selanjutnya strip

dicuci dengan larutan ambient sebanyak 5 mL, kemudian diinkubasi pada inkubator goyang selama 10 menit pada suhu ruangan dengan kecepatan 60 rpm, lalu larutan dibuang, selanjutnya strip dicuci dengan larutan citrate sebanyak 5 mL, kemudian diinkubasi dengan inkubator goyang selama 5 menit suhu ruangan dengan kecepatan 60 rpm, lalu larutan dibuang, selanjutnya strip dicuci dengan larutan substrak sebanyak 5 mL, kemudian diinkubasi dengan inkubator goyang selama 5 menit dengan kecepatan 60 rpm, lalu larutan dibuang, kemudian strip dibaca dengan melihat warna yang terbentuk pada strip.

b. PCR dan Reverse line blot

1. Amplifikasi DNA

Proses PCR menggunakan GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystem, USA) dengan volume reaksi 50 μ L yang mengandung 10x PCR buffer HotStar (5 μ L), 25 mM $MgCl_2$ (0.75 μ L), 10 μ M dNTP mix (1 μ L), 5xQ solution (10 μ L), 10 μ M primer mix HPV (primer β - globin dan HPV)(2.2 μ L), HotStar DNA polymerase (0.25 μ L), Destilate water dan DNA hasil ekstrasi sebanyak 10 μ L. Tahapan siklus PCR, denaturasi, *annealing* dan ekstensi, dilakukan pada suhu 94°C, 40°C dan 72°C, dengan 40 siklus

2. Elektroforesis gel dengan agarose 1,5%

Untuk mengetahui hasil amplifikasi DNA HPV dilanjutkan ke proses elektroforesis gel dengan agarose 1,5%. Proses dimulai dengan menyiapkan agarose 1,5% dengan melarutkan agarose sebanyak 1.5

gram ke dalam TAE 1x 100 mL, dipanaskan selama 2 menit hingga larut dan bening, kemudian cetak dicetakan, biarkan hingga gel membeku, lalu angkat sisirnya sehingga terbentuklah sumur-sumur gel bekas sisir. Gel agarosa bersama cetakannya diangkat dan dipasang ke dalam perangkat elektroforesis (BioRad, USA). Buffer TAE 1x kemudian dituang ke dalam tangki elektroforesis hingga menutupi permukaan atas gel. Ke dalam masing-masing sumur, dimasukkan 5 μ L produk PCR setelah dicampur dengan 1 μ L larutan *loading dye*. Pada salah satu sumur dimasukkan 5 μ L marker (100bp) sebagai standar ukuran DNA. Perangkat elektroforesis dijalankan dengan memberi aliran listrik pada tegangan 50 Volt (V) selama 30 menit, kemudian dipindahkan pada tegangan 100 Volt (V) selama 30 menit.

Setelah proses elektroforesis gel agarosa selesai, gel dimasukkan ke dalam larutan ethidium bromide untuk diwarnai selama 30 menit, lalu gel dimasukkan ke dalam perangkat Gel Doc XR (Biorad, USA) dengan melepaskan gel dari cetakannya. Gel dipapar oleh sinar ultraviolet (UV). Gambar gel yang terbentuk di bawah sinar UV lalu didokumentasikan. DNA yang berikatan dengan ethidium bromide akan berpendar di bawah paparan sinar UV. Hasil positif ditunjukkan apabila ada pendaran pita DNA yang ukurannya sesuai dengan ukuran produk PCR yang diharapkan.

3. Pembuatan Buffer

a. Pembuatan Larutan H

Pembuatan buffer dimulai dengan menambahkan 10xSSPE sebanyak 100 mL, Denhardt 50x sebanyak 20 mL, SDS 10% sebanyak 10 mL ke dalam aquabidest sebanyak 70 mL, kemudian homogenkan.

b. Pembuatan Larutan D

Pembuatan buffer dimulai dengan menimbang NaOH sebanyak 4 gram, kemudian dimasukkan kedalam aquabidest sebanyak 250 mL, lalu dihomogenkan, setelah itu buffer disterilkan.

c. Pembuatan Larutan LP I

Pembuatan buffer dimulai dengan menambahkan 10xSSPE sebanyak 100 mL, SDS 10% sebanyak 5 mL ke dalam aquabidest sebanyak 395 mL, kemudian homogenkan.

d. Pembuatan Larutan LP II

Pembuatan buffer dimulai dengan menambahkan 10xSSPE sebanyak 50 mL, SDS 10% sebanyak 5 mL ke dalam aquabidest sebanyak 445 mL, kemudian homogenkan.

4. Pembuatan membran

Pembuatan membran dimulai dengan memipet setiap 100 μ M probe HPV (HPV tipe 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 dan globin) sebanyak 1.8 μ L, kemudian setiap tabung ditambahkan larutan D sebanyak 608.2 μ L, lalu divortex dan spin, kemudian diinkubasi pada suhu 100°C selama 10 menit, lalu diinkubasi lagi diatas es sampai digunakan.

Selanjutnya disusun blotter, kemudian diletakkan kertas saring sebanyak 5 lembar (tiap lembar kertas saring basahi dengan larutan D) dan membran nitroselulosa tepat diatas kertas saring pada blotter ke-2, lalu blotter dikencangkan dengan baut, kemudian vacuum dinyalakan, setelah itu Bromo phenol blue (stok 3) ditambahkan sebanyak 50 μ L di tiap well pada blotter, penambahan dimulai dari tengah blotter, kemudian ditambahkan larutan D sebanyak 60 μ L di tiap well pada blotter, lalu setiap probe HPV ditambahkan di tiap well pada blotter sebanyak 200 μ L (well 1 = HPV 16, well 2 = HPV 18, well 3 = HPV 31, well 4 = HPV 33, well 5 = HPV 35, well 6 = HPV 39, well 7 = 45, well 8 = 51, well 9 = HPV 52, well 10 = HPV 56, well 11 = HPV 58, well 12 = HPV 59, well 13 = HPV 66, well 14 = HPV 68 dan well 15 = globin), kemudian vacuum dibiarkan menyala selama 10 menit lalu membran dikeringkan menggunakan oven pada suhu 80°C selama 1 jam lalu membran disimpan pada suhu -20°C sampai digunakan.

5. Hibridisasi *Reverse Line Blot*

Hasil amplifikasi PCR dilanjutkan ke tahap Hibridisasi. Tahap ini dimulai dengan memanaskan larutan H selama 30 menit pada suhu 56°C, Larutan LP I dan LP II selama 30 menit pada suhu 55°C. Selanjutnya memasukkan membran ke dalam tray, kemudian ditambahkan larutan H sebanyak 5 mL ke dalam tray lalu diinkubasi dengan inkubator goyang selama 30 menit pada suhu 56°C dengan kecepatan 40 rpm kemudian ditambahkan Larutan D sebanyak 25 μ L kedalam produk PCR setelah itu

mix 'produk PCR + Larutan D' dimasukkan kedalam membran sebanyak 75 μ L lalu diinkubasi dengan inkubator goyang selama 2 jam pada suhu 56°C dengan kecepatan 40 rpm, kemudian larutan H dibuang lalu membran dicuci dengan larutan LP I sebanyak 5 mL lalu diinkubasi dengan inkubator goyang selama 30 menit pada suhu 55°C dengan kecepatan 40 rpm, larutan LP I dibuang kemudian pencucian LP I diulang. Pencucian akhir dilakukan menggunakan larutan LP II sebanyak 5 mL kemudian diinkubasi dengan inkubator goyang selama 10 menit pada suhu 55°C dengan kecepatan 40 rpm, larutan LP II di buang setelah itu larutan LP I ditambahkan kedalam membran sebanyak 5 mL kemudian ditambahkan 10 μ g/mL streptavidin-POD sebanyak 1 tetes lalu diinkubasi dengan inkubator goyang selama 1 jam pada suhu ruang dengan kecepatan 40 rpm, buang larutan. Membran dicuci dengan larutan LP I sebanyak 5 mL kemudian diinkubasi dengan inkubator goyang selama 10 menit pada suhu ruang dengan kecepatan 40 rpm, larutan LP I dibuang kemudian pencucian LP I diulang sebanyak 3 kali setelah itu membran dikeringkan menggunakan kertas saring lalu ditambahkan ECL sebanyak 200 μ L kemudian diinkubasi selama 1 menit, membran dikeringkan menggunakan kertas saring. Tahap selanjutnya dilakukan pada ruang gelap dengan sinar inframerah, membran yang sudah kering dimasukkan kedalam plastik transparan kemudian dimasukkan kedalam *cassette expose film* lalu hyperfilm/film x-ray diletakkan diatas membran, selanjutnya diinkubasi selama 2 – 16 jam (*overnight*). Hyperfilm/film x-

raydiambil kemudian dimasukkan kedalam larutan D selama 1 – 2 menit atau sampai kelihatan *line blot*, film dicuci dengan aquadest sebanyak 3 kali celup lalu film dimasukkan kedalam larutan F sebanyak 3 kali celup, film dicuci dengan aquadest sebanyak 3 kali celup kemudian dideteksi *line blot* yang terbentuk pada film.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

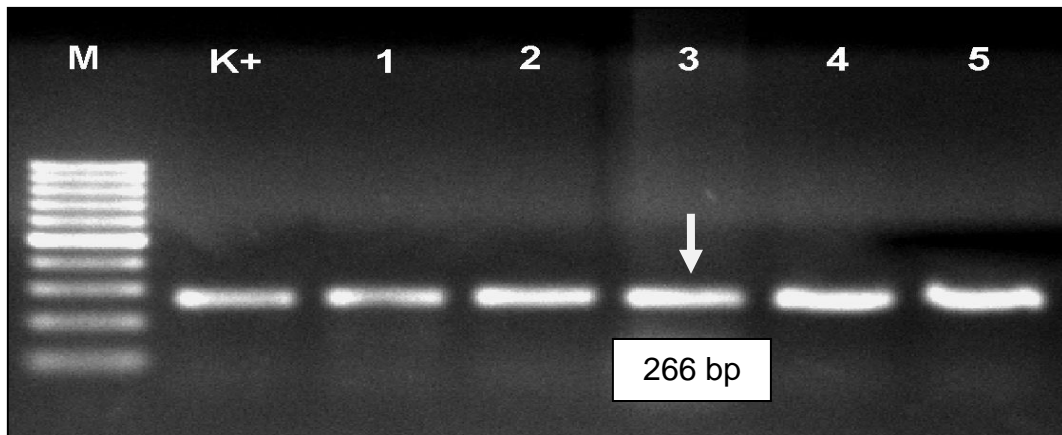
1. Gambaran Data Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Klinik Jafira, Rumah Bersalin Restu, Rumah sakit DR. Wahidin Sudirohusodo dan Klinik PA. Jumlah Sampel yang diperoleh sebesar 143 sampel. Pada Rumah sakit Wahidin diperoleh 87 sampel, Rumah Bersalin Restu diperoleh 10 sampel, Klinik Jafira diperoleh 8 sampel, dan Klinik PA diperoleh 40 sampel.

Sampel yang diperoleh kemudian di ekstraksi dengan menggunakan Qiagen dan Tiagen. DNA yang diperoleh dilanjutkan ke tahap Identifikasi *Human papillomavirus*, tahap ini dimulai dengan mendeteksi β - globin gene menggunakan metode PCR. Sampel yang positif β - globin gene, menandakan bahwa prosedur pengambilan sampel serviks sudah tepat, Pada penelitian ini semua sampel positif β - globin berarti semua sampel sudah tepat prosedur pengambilannya. Sampel yang positif β - globin gene dilanjutkan ke pendeteksian *Human papillomavirus* dengan menggunakan metode PCR. Pada penelitian ini dari 143 sampel terdapat 38 sampel yang positif *Human papillomavirus*. Sampel yang positif dilanjutkan ke metode *Linear array genotyping test* dan PRELIB untuk *genotyping* HPV.

2. Gambaran Hasil Deteksi *Human papillomavirus*

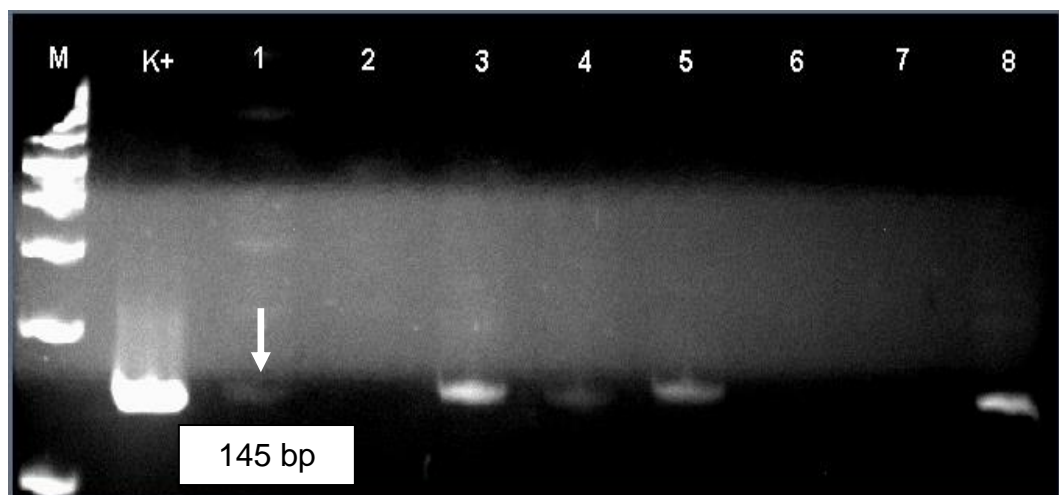
a. Hasil PCR β - globin gen



Gambar 15. Hasil elektroforesis β - globin gen

Pada gambar diatas menunjukkan hasil positif β - globin gen, dimana terdapat band yang posisinya sama dengan kontrol (+) yaitu 266 bp. Besar band setiap sampel sama, dikarenakan β - globin gen merupakan kontrol pengambilan sampel. Sampel yang positif β - globin gen, menandakan bahwa prosedur pengambilan sampel sudah tepat.

b. Hasil PCR HPV (L1) gen

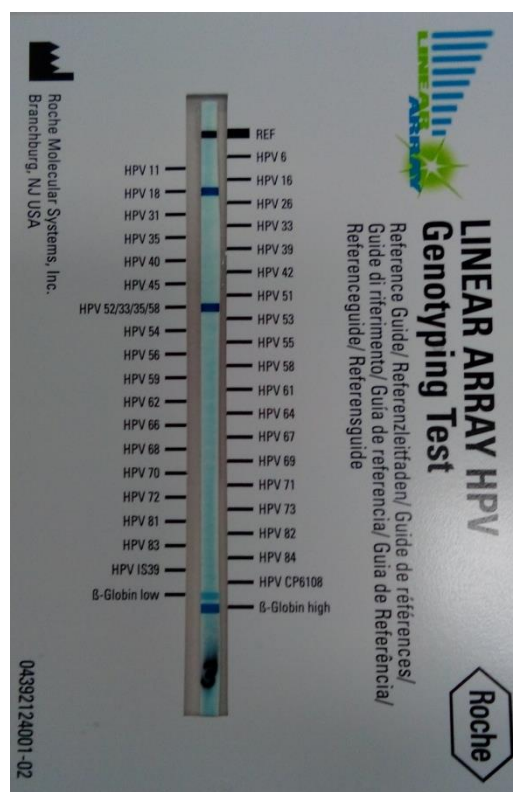


Gambar 16. Hasil elektroforesis *Human papillomavirus*

Pada gambar diatas menunjukkan hasil positif HPV, dimana terdapat band yang posisinya sama dengan kontrol (+) yaitu 145 bp. Besar band setiap sampel berbeda, dikarenakan jumlah setiap DNA HPV pada sampel berbeda.

3. Gambaran hasil *Genotyping Human papillomavirus*

a. *Linear array genotyping test*



Gambar 17. Hasil genotyping HPV dengan metode *Linear array genotyping test*

Pada gambar diatas menunjukkan hasil genotyping HPV. Hasil diatas menunjukkan sampel positif HPV tipe 18 dan tipe 52.

Tabel 4.1. Hasil genotyping Linear array

Kode Pasien	Diagnosa	Tipe HPV
RW3	Tumor adnexa (HIV)	TIPE 39, 52,62
RW 6	Ca. Serviks	TIPE 18
RW 7	Neoplasma Ovarium susp. Ganas	TIPE 18
RW 10	Ca. Serviks	TIPE 52
RW 13	Ca. Serviks	TIPE 45
RW 18	Ca. Serviks	TIPE 18
RW 20	Ca. Vulva	TIPE 16
RW 21	Ca. Serviks	TIPE 45
RW 22	Ca. Serviks	TIPE 18
RW 24	Ca. Serviks	TIPE 18, 52
RW 25	Ca. Vagina	TIPE 18
RW 29	Ca. Serviks	TIPE 18
RW 32	Ca. Serviks	TIPE 16, 42
RW 40	Ca. Serviks	TIPE 16
RW 43	Ca. Serviks	TIPE 18
RW 49	Ca. Serviks	TIPE 45
RW 50	Ca. Serviks	TIPE 16
RW 59	Ca. Serviks	TIPE 18
RW 63	Ca. Serviks	TIPE 16
RW 64	Ca. Ovarium	TIPE 16, 54
RW 65	Tumor Adnexa	TIPE 16

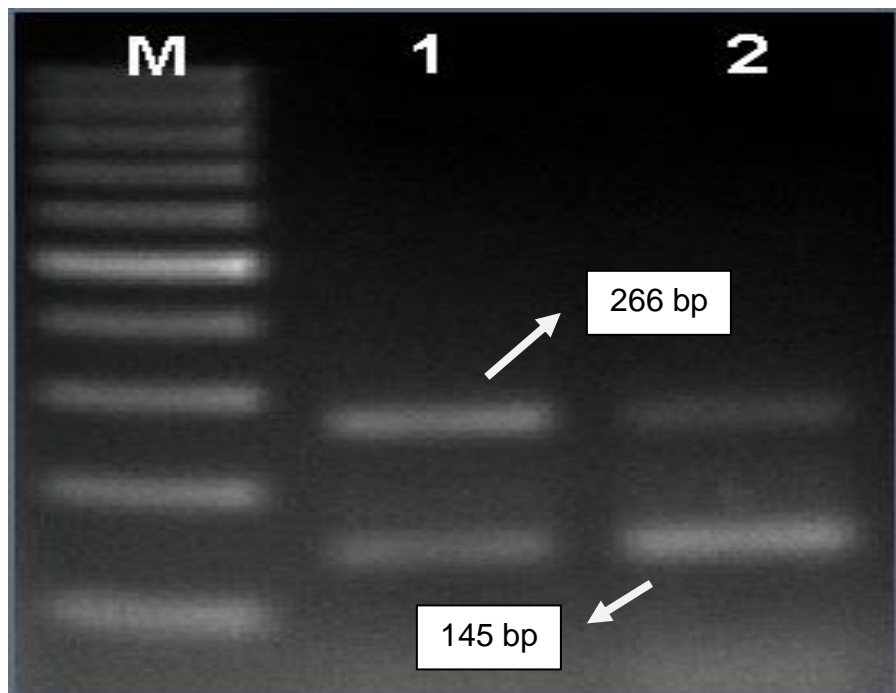
RW 67	Ca. Serviks	TIPE 16
RW 71	Ca. Serviks	TIPE 45
RW 73	Ca. Serviks	TIPE 16
RW 74	Ca. Serviks	TIPE 18
RW 76	Ca. Serviks	TIPE 16
RW 79	Ca. Serviks	TIPE 16
RW 80	Ca. Serviks	TIPE 45
RW 83	Ca. Serviks	TIPE 18, 81
RW 85	Ca. Serviks	TIPE 16
RW 89	Ca. Serviks	TIPE 45
RW 98	Ca. Serviks	NEGATIF
PR 13	Radang Menahun	TIPE 16
PR 25	Normal	TIPE 6, 42
PR 31	Kondiloma	TIPE 6, 84
PA 2	Tumor Uterus	TIPE 58
PA 4	Tumor Uterus	TIPE 70, 84
PA 10	Ca. Serviks	TIPE 45

Berdasarkan tabel 4.1, tipe HPV yang paling banyak menginfeksi adalah HPV tipe 16, 18 dan 45. Pada penelitian ini dari 143 sampel, terdapat 38 sampel (26.6%) yang positif HPV, akan tetapi hanya 37 yang positif *Linear array*. Dari hasil linear array diperoleh pasien yang terinfeksi HPV tipe 16 sebanyak 14 orang, HPV tipe 18 sebanyak 10 orang, HPV

tipe 45 sebanyak 7 orang, HPV tipe 52 sebanyak 3 orang, HPV tipe 42, 84, 6 masing – masing 2 orang, HPV tipe 39, 54, 58, 62, 70 masing – masing 1 orang.

b. PRELIB (PCR dan *Reverse Line Blot*)

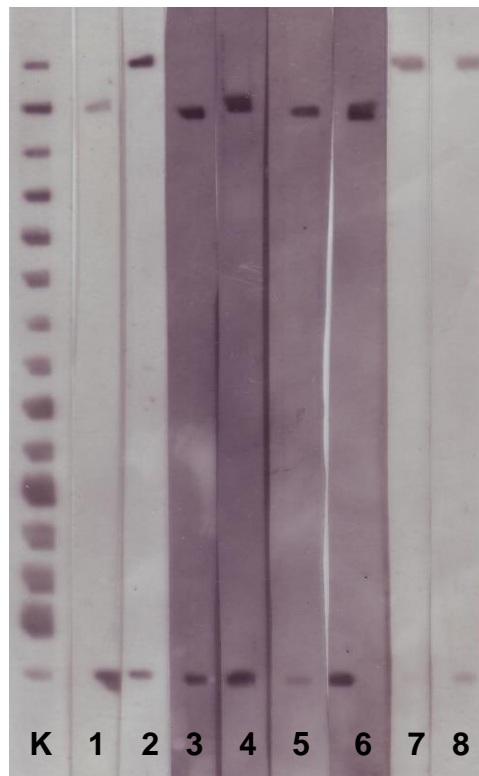
1. Hasil PCR



Gambar 18. Hasil PCR metode PRELIB

Pada metode PRELIB, kedua band harus muncul, yaitu band β -globin gen (266 bp) dan band HPV (145 bp), setelah kedua pita muncul, barulah hasil amplifikasi di lanjutkan ke metode hibridisasi.

2. Hasil Hibridisasi *Reverse Line Blot*



Gambar 19. Hasil Hibridisasi *Reverse Line Blot*

Pada gambar diatas menunjukkan hasil genotyping HPV. Hasil diatas menunjukkan sampel no. 1, 3, 4, 5, dan 6 positif HPV tipe 18, dan sampel no. 2, 7 dan 8 positif HPV tipe 16. Kontrol positif pada PRELIB terdiri atas HPV tipe 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 dan globin.

4. Analisis Univariat

Analisis univariat bertujuan untuk melihat gambaran variabel umur, pekerjaan, jumlah paritas, Infeksi HPV dan kanker ginekologi, dapat dilihat pada tabel 4.2.

Tabel 4.2. Gambaran Karakteristik Dasar Pasien Berdasarkan Kanker Ginekologi

Variabel Penelitian		Kanker Ginekologi			
		Ya	%	Tidak	%
Umur	< 35 Tahun	4	9.8 %	37	90.2 %
	≥ 35 Tahun	42	41.2 %	60	58.8 %
Paritas	≥ 3	32	50 %	32	50 %
	0 – 2	14	17.7 %	65	82.3 %
Pekerjaan	IRT	36	40.4 %	53	59.6 %
	PNS	3	9.1 %	30	90.9 %
	Swasta/Wiraswasta	7	33.3 %	14	66.7 %
Infeksi HPV	Positif	31	81.6 %	7	18.4 %
	Negatif	15	14.3 %	90	85.7 %

Pada tabel 4.2, berdasarkan umur pasien, umur ≥ 35 tahun memiliki proporsi yang tinggi, baik pada pasien yang mengalami kanker ginekologi (42 (41.2 %)), dan pasien yang tidak mengalami kanker ginekologi (60 (58.8 %)). Berdasarkan paritas, proporsi yang tinggi yang melahirkan ≥ 3 anak, baik pada pasien yang mengalami kanker ginekologi dan pasien yang tidak mengalami kanker ginekologi (32 (50 %)). Berdasarkan pekerjaan, IRT memiliki proporsi yang tinggi, baik pada pasien yang mengalami kanker ginekologi (36 (40.4 %)) dan pasien yang tidak

mengalami kanker ginekologi (53 (59.6 %)). Berdasarkan Infeksi HPV, hasil positif memiliki proporsi yang tinggi pada kanker ginekologi (31(81.6%)), dan hasil negatif memiliki proporsi yang tinggi pada pasien yang tidak mengalami kanker ginekologi (90(85.7%)).

Tabel 4.3. Gambaran kejadian kanker ginekologi

Variabel	Jumlah	%
Kanker Ginekologi	46	32.2 %
Bukan kanker ginekologi	97	67.8 %

Berdasarkan tabel 4.3, dari 143 pasien terdapat 46 orang yang mengalami kanker ginekologi, sedangkan yang tidak mengalami kanker ginekologi sebanyak 97 orang.

5. Analisis Bivariat

Pada analisis bivariat akan dilihat hubungan antara variabel independen dengan variabel dependen. Analisis ini menggunakan ukuran P-value.

Tabel 4.4. Analisis Bivariat hubungan Variabel Indenden dengan Variabel dependen

Variabel Penelitian		Kanker Ginekologi				P-value
		Ya	%	Tidak	%	
Umur	< 35 Tahun	4	9.8 %	37	90.2 %	0.0001
	≥ 35 Tahun	42	41.2 %	60	58.8 %	
Paritas	≥ 3	32	50 %	32	50 %	0.0001
	0 – 2	14	17.7 %	65	82.3 %	

Pekerjaan	IRT	36	40.4 %	53	59.6 %	0.004
	PNS	3	9.1 %	30	90.9 %	
	Swasta/Wiraswasta	7	33.3 %	14	66.7 %	
Infeksi HPV	Positif	31	81.6 %	7	18.4 %	0.0001
	Negatif	15	14.3 %	90	85.7 %	

a. Hubungan antara Umur dengan Kanker Ginekologi

Berdasarkan tabel 4.4, Pada pasien dengan kelompok umur < 35 tahun yang mengalami kanker ginekologi sebanyak 4 orang (9.8%) dan tidak mengalami kanker ginekologi sebanyak 37 (90.2%) sedangkan pada pasien dengan kelompok umur \geq 35 tahun yang mengalami kanker ginekologi sebanyak 42 orang (41.2%) dan tidak mengalami kanker ginekologi sebanyak 60 orang (58.8%).

Berdasarkan analisis chi-square diperoleh nilai P-value = 0.0001 (< 0.005) yang berarti terdapat hubungan yang signifikan antara umur dengan kanker ginekologi.

b. Hubungan antara Paritas dengan Kanker Ginekologi

Berdasarkan tabel 4.4, Pada pasien dengan kelompok jumlah paritas \geq 3 anak yang mengalami kanker ginekologi sebanyak 32 orang (50%) dan tidak mengalami kanker ginekologi sebanyak 32 (50%) sedangkan pada pasien dengan kelompok jumlah paritas 0 – 2 anak yang mengalami kanker ginekologi sebanyak 14 orang (17.7%) dan tidak mengalami kanker ginekologi sebanyak 65 orang (82.3%).

Berdasarkan analisis chi-square diperoleh nilai P-value = 0.0001 (< 0.005) yang berarti terdapat hubungan yang signifikan antara jumlah paritas dengan kanker ginekologi.

c. Hubungan antara Pekerjaan dengan Kanker Ginekologi

Berdasarkan tabel 4.4, Pada pasien dengan kelompok IRT (Ibu Rumah Tangga) yang mengalami kanker ginekologi sebanyak 36 orang (40.4%), dan tidak mengalami kanker ginekologi sebanyak 53 (59.6%), pada pasien dengan kelompok PNS yang mengalami kanker ginekologi sebanyak 3 orang (9.1%) dan tidak mengalami kanker ginekologi sebanyak 30 orang (90.9%) sedangkan pada pasien dengan kelompok Swasta/Wiraswasta yang mengalami kanker ginekologi sebanyak 7 orang (33.3%) dan tidak mengalami kanker ginekologi sebanyak 14 orang (66.7%)

Berdasarkan analisis chi-square diperoleh nilai P-value = 0.004 (< 0.005) yang berarti terdapat hubungan yang signifikan antara pekerjaan dengan kanker ginekologi.

d. Hubungan antara Infeksi HPV dengan Kanker Ginekologi

Berdasarkan tabel 4.4, Pada pasien dengan kelompok positif HPV yang mengalami kanker ginekologi sebanyak 31 orang (81.6%) dan tidak mengalami kanker ginekologi sebanyak 7 (18.4%) sedangkan pada pasien dengan kelompok negatif HPV yang mengalami kanker ginekologi sebanyak 15 orang (14.3%) dan tidak mengalami kanker ginekologi sebanyak 90 orang (85.7%).

Berdasarkan analisis chi-square diperoleh nilai P-value = 0.0001 (< 0.005) yang berarti terdapat hubungan yang signifikan antara infeksi HPV dengan kanker ginekologi.

B. Pembahasan

Kanker ginekologi terdiri dari berbagai tumor ganas yang berasal dari sel – sel organ reproduksi wanita, meliputi kanker serviks, kanker ovarium, kanker vagina, kanker vulva, kanker endometrium dll. Kanker serviks merupakan jenis kanker penyebab kematian kedua terbanyak pada wanita di seluruh duniadengan insidens sebesar 25 – 40 per 100.000 wanita per tahun. (HPV Statistics; Noviana, 2012; Tambunan et al, 2007; WHO, 2010).

Pada penelitian ini, dari 143 pasien terdapat 46 orang (32.2 %) yang mengalami kanker ginekologi. Pada kanker ginekologi, Ca. serviks merupakan kanker yang paling banyak dialami oleh pasien yaitu 30 orang, Ca. Ovarium sebanyak 5 orang, Ca. Endometrium sebanyak 3 orang. Sedangkan pada bukan kanker ginekologi, Radang menahun merupakan kelainan ginekologi yang paling banyak dialami pasien yaitu 34 orang.

Pada penelitian ini dari 143 sampel, terdapat 38 sampel (26.6%) yang positif HPV, akan tetapi hanya 37 yang positif *Linear array*. Dari 37 orang yang positif *Linear array* terdapat 27 orang dengan kanker serviks, pada tumor uterus dan tumor adnexa masing – masing 2 orang,

sedangkan pada kanker vagina, kanker vulva, kanker ovarium, kondiloma, radang menahun, neoplasma ovarium susp. ganas, normal masing – masing 1 org.

Dari 27 orang yang mengalami kanker serviks yang terinfeksi HPV tipe 16 sebanyak 9 orang, HPV tipe 18 sebanyak 9 orang, HPV tipe 45 sebanyak 6 orang, HPV tipe 52 sebanyak 2 orang, HPV 42 dan 81 masing – masing 1 orang, sedangkan yang mengalami koinfeksi HPV sebanyak 3 orang.

Pada tumor uterus, terdapat pasien yang mengalami koinfeksi HPV yaitu HPV tipe 70 dan 84, sedangkan pasien yang lain terinfeksi HPV tipe 58. Hal yang sama terjadi pada tumor adnexa, terdapat pasien yang mengalami koinfeksi HPV yaitu HPV tipe 39,52 dan 62, sedangkan pasien yang lainnya terinfeksi HPV tipe 16

Pasien yang mengalami kanker vagina terinfeksi HPV tipe 18 sedangkan Pasien yang mengalami kanker vulva dan radang menahun masing – masing terinfeksi HPV tipe 16. Pasien dengan kanker ovarium mengalami koinfeksi HPV tipe 16 dan 54, begitu pula dengan pasien kondiloma mengalami koinfeksi HPV tipe 6 dan 84.

Pada penelitian ini dari 37 sampel yang positif *Linear array*, 8 sampel diambil secara acak untuk dilanjutkan ke metode PRELIB, hal ini dilakukan untuk mengetahui bahwa metode PRELIB dapat digunakan dalam *genotyping* HPV tipe *high risk*. Hasil yang diperoleh sama dengan hasil *linear array genotyping test*.

1. Hubungan umur dengan kanker ginekologi

Berdasarkan tabel 4.4, hasil analisis menunjukkan nilai P-value = 0.0001 (< 0.005) yang berarti terdapat hubungan yang signifikan antara umur dengan kanker ginekologi.

Usia rata-rata dari pasien karsinoma kanker serviks dari penelitian retrospektif yang dilakukan oleh Schellekens dan Ranti di Rumah Sakit dr. Hasan Sadikin Bandung untuk periode januari tahun 2000 sampai juli 2001 dengan interval usia mulai 21 sampai 85 tahun (N=307) mendapatkan penderita kanker serviks rata-rata berusia 32 tahun. Di tempat yang sama S. Van Loon melakukan penelitian terhadap 58 pasien dengan kanker serviks pada tahun 1996, dan mendapatkan pasien mayoritas yaitu 20,3% berusia 40-44 tahun dan usia rata-rata 46 tahun (Lembahmanah, 2009; Rasjidi, 2008).

Sumber lain menerangkan usia pasien rata-rata antara 30-60 tahun, terbanyak antara 45-50 tahun. Hal ini dikarenakan periode laten dari fase prainvasif untuk menjadi invasif memakan waktu sekitar 10 tahun. Hanya 9% wanita berusia kurang dari 35 tahun menunjukkan kanker serviks yang invasif pada saat didiagnosa, sedangkan 53% dari KIS (Karsinoma In Situ) terdapat pada wanita dibawah usia 35 tahun. Menurut Benson KL, 2% dari wanita yang berusia 40 tahun akan menderita kanker serviks dalam hidupnya. Hal ini dimungkinkan karena perjalanan penyakit ini memerlukan waktu 7 sampai 10 tahun untuk terjadinya kanker invasif

sehingga sebagian besar terjadinya atau diketahuinya setelah berusia lanjut (Lembahmanah, 2009; Rasjidi, 2008).

2. Hubungan jumlah paritas dengan kanker ginekologi

Berdasarkan tabel 4.4, hasil analisis menunjukkan nilai P-value = 0.0001 (< 0.005) yang berarti terdapat hubungan yang signifikan antara jumlah paritas dengan kanker ginekologi.

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Mubasir dkk, Pada tahun 1993 menemukan lebih tinggi frekuensi kejadian kanker serviks pada pasien yang pernah melahirkan dari pada yang belum melahirkan. Multiparitas terutama dihubungkan dengan kemungkinan menikah pada usia muda, disamping itu dihubungkan pula dengan sosial ekonomi yang rendah dan higiene yang buruk.

Susanto dan Suardi di Rumah Sakit Dr. Hasan Sadikin Bandung dalam penelitiannya mendapatkan paritas terbanyak pasien kanker serviks yaitu paritas lebih dari lima, Sahil MF (1993) mendapatkan pada paritas 6 atau lebih cenderung terkena kanker serviks. Multiparitas diduga menyebabkan penurunan daya tahan tubuh. Pada penelitian di Swedia memperlihatkan bahwa tingkat rekurensi meningkat pada paritas lebih dari tiga (Legra et al, 2004; Lembahmanah, 2009).

3. Hubungan pekerjaan dengan kanker ginekologi

Berdasarkan tabel 4.4, hasil analisis diperoleh nilai P-value = 0.004 (< 0.005) yang berarti terdapat hubungan yang signifikan antara pekerjaan dengan kanker ginekologi.

Pekerjaan merupakan salah satu indikator tingkat pendidikan seseorang. Tingkat pendidikan seseorang dapat mendukung atau mempengaruhi tingkat pengetahuan seseorang dan taraf pendidikan yang rendah selalu berhubungan dengan informasi dan pengetahuan yang terbatas. Semakin tinggi pendidikan seseorang semakin tinggi pula pemahaman seseorang terhadap informasi yang didapat dan pengetahuannya pun akan semakin tinggi. Pendidikan yang rendah menyebabkan seseorang tidak peduli terhadap program kesehatan yang ada, sehingga mereka tidak mengenal bahaya yang mungkin terjadi. Walaupun ada sarana yang baik belum tentu mereka tahu menggunakannya.

Perilaku hidup sehat sangat dipengaruhi oleh tingkat pendidikan penduduk. Tingkat pendidikan yang masih rendah merupakan salah satu sebab rendahnya pemahaman masyarakat terhadap informasi kesehatan serta pembentukan perilaku sehat.

Tingkat pengetahuan yang tinggi pada seseorang akan menjadikannya lebih kritis dalam menghadapi berbagai masalah. Sehingga pada wanita yang mempunyai tingkat pendidikan yang baik akan membangkitkan partisipasinya dalam memelihara dan merawat kesehatannya. Wanita yang berpendidikan tinggi cenderung akan memperhatikan kesehatan diri dan keluarganya.

Pendidikan dan pendapatan keluarga dihubungkan dengan nutrisi yang dikonsumsi sehari-hari, higiene serta kepatuhan untuk melakukan

pemeriksaan secara teratur. Pendidikan yang rendah menyebabkan seseorang tidak mengenal bahaya yang mungkin terjadi. Walaupun ada sarana yang baik belum tentu mereka tahu menggunakannya. Dengan pendidikan yang tinggi maka semakin banyak seseorang mengetahui tentang permasalahan yang menyangkut perbaikan lingkungan dan hidupnya.

Selain itu peningkatan pendidikan formal wanita akan mendewasakan usia perkawinan. Hal ini membuat rentang usia subur yang dijalani dalam ikatan perkawinan semakin pendek. Tingkat pendidikan yang tinggi akan meningkatkan kemungkinan bagi wanita untuk tidak menikah sama sekali selama hidupnya. Hal ini terjadi terutama karena tingkat pendidikan yang tinggi mampu membuka kesempatan yang lebih luas bagi wanita untuk bekerja, berorganisasi, dan mengembangkan kariernya di luar rumah (Legra et al, 2004; Lembahmanah, 2009; Soegiyanto, 2008).

4. Hubungan infeksi HPV dengan kanker ginekologi

Berdasarkan table 4.4, hasil analisis diperoleh nilai P-value = 0.0001 (< 0.005) yang berarti terdapat hubungan yang signifikan antara infeksi HPV dengan kanker ginekologi.

Human papillomavirus(HPV) genitalia adalah penyebab infeksi paling sering yang ditularkan melalui hubungan seksual (*sexually transmitted infection*) di dunia. Infeksi persisten HPV, khususnya HPV tipe high risk, dapat menimbulkan kanker serviks pada wanita dan kanker anogenital

lainnya (vulva, vagina, penis, dan anus), sedangkan infeksi HPV tipe low risk dapat menimbulkan kutil kelamin (*condyloma acuminatum*), baik pada wanita maupun pria. Manusia adalah reservoir utama bagi HPV dan setiap individu dapat terinfeksi oleh lebih dari satu tipe HPV (infeksi multipel). Lebih dari 100 genotipe HPV telah teridentifikasi, 40 di antaranya menginfeksi sistem genitalia. Tipe HPV genitalia digolongkan berdasarkan asosiasi epidemiologis dengan kanker serviks (Noviana, 2012; WHO, 2010; Woodman et al, 2007).

HPV tipe high risk bersifat karsinogenik, cenderung berkembang menjadi kanker serviks atau kanker anogenital lainnya. HPV tipe *high risk*, meliputi tipe 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 69, 73, dan 82, dapat menyebabkan abnormalitas *low-grade* hingga *high-grade* pada sel – sel serviks yang merupakan prekursor kanker. Kurang lebih 90% kasus kanker serviks disebabkan oleh infeksi HPV tipe *high risk*. Meskipun infeksi HPV tipe *high risk* dapat menyebabkan kanker serviks, mayoritas infeksi yang terjadi bersifat *self-limiting* (Noviana, 2012; WHO, 2010; Woodman et al, 2007).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, peneliti membuat kesimpulan sebagai berikut :

1. Prevalensi Kanker ginekologi sebesar 32.2 % (46 orang), Ca. serviks yaitu 30 orang, Ca. Ovarium sebanyak 5 orang, Ca. Endometrium sebanyak 3 orang.
2. Prevalensi Infeksi *Human papillomavirus* sebesar 26.6 % (38 orang).
3. *Human papillomavirus* yang paling banyak menginfeksi adalah HPV tipe 16, 18 dan 45.
4. Ada hubungan antara usia, jumlah anak, pekerjaan dan infeksi HPV dengan kejadian kanker ginekologi.
5. Metode PRELIB dapat digunakan dalam mengidentifikasi HPV tipe high risk

B. Saran

Dapat dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai penggunaan metode PRELIB untuk genotyping HPV, dengan menggunakan sampel biopsi.

DAFTAR PUSTAKA

- Arbyn M, Sasieni P, Meijer CJLM, Clavel C, Koliopoulos G, Dillner J. 2006. *Clinical Application of HPV testing: A summary of meta-analysis*. *Vaccine*; 24S3:78-89.
- Azis Ean, Rauf S. 2005. *Deteksi human papilloma virus (HPV) tipe 16 dengan teknik polymerase chain reaction (PCR) pada kanker serviks uteri*. *Majalah Obstetri dan Ginekologi Indonesia* 29:43 - 53.
- Aziz F. 2001. *Masalah pada kanker serviks*. *Cermin dunia kedokteran*; 133: 5 – 7
- Aziz F, Nugroho K, Ratna SS. 1985. *Karsinoma serviks uterus*, Bagian Obstetri dan Ginekologi, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. RS dr. Ciptomangunkusomo. Jakarta.
- Andrijono. 2007. *Kanker serviks*. Divisi Onkologi. Departemen Obstetri dan Ginekologi, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia
- Bartlett JMS, Stirling J. 1999. *PCR Protocols*. Totowa: Human Press.
- Benedet JL, Ngan HYS, Hacker NF. 2000. *Staging Classifications and clinical practice guidelines of gynecologic cancers*. *Int J Gynecol cancer*; 70: 207 – 312
- Berezutskaya E, Yu B, Morozov A, Raychaudhuri P & Bagchi S. 1997. *Differential regulation of the pocket domains of the retinoblastoma family proteins by the HPV16 E7 oncoprotein*. *Cell Growth Differ*. 8:1277–1286.
- Bolick DR, Hellman DJ. 1998. *Laboratory implementation and efficacy assessment of the ThinPrep cervical cancer screening system*. *Acta Cytol* 42(1):209-213.
- Boon ME, Suurmeijer AJH. 1991. *The pap smear*. Leiden: Coulomb
- Bosch FX, Lorinez A, Munoz N, Meijer CJLM, Shah KV . 2002. *The causal relation between papillomavirus and cervical cancer* . *J Clin Pathol*;55:244-65.
- Bousarghin L, Touze A, Sizaret P.Y, Coursaget P. 2003. *Human papillomavirus types 16, 31, and 58 use different endocytosis pathways to enter cells*. *J Virol* 77:3846-3850.

- Brehm A, Miska E.A, McCance D.J, Reid J.L, Bannister A.J & Kouzarides T. 1998. *Retinoblastoma protein recruits histone deacetylase to repress transcription*. Nature 391:597–601.
- Brown TA. 1995. *Essential Molecular Biology*. Ingggris: Oxford Univ Press.
- Burd E.M. 2003. *Human Papillomavirus and Cervical Cancer*. Clin Microbiol Rev. 1–17.
- Castle PE, Lorincz AT, Lohnas IM. *Result of Human Papillomavirus DNA Testing with the Hybrid Capture II Assay are Reproducible*. Clin. Microbiol. 2002; 40: 1088-90.
- Centers for Disease Control and Prevention. 2004. *Genital HPV infection*. CDC Fact Sheet.
- Classon M & Dyson N. 2001. *p107 and p130: versatile proteins with interesting pockets*. Exp. Cell Res. 264:135–147.
- Clifford G.M, Smith J.S, Plummer M, Munoz N & Franceschi S. 2003. *Human papillomavirus type 16 in invasive cervical cancer worldwide. A meta-analysis*. Br J Cancer. 88: 63-73
- Conway M.J & Meyers C. 2009. *Replication and Assembly of Human Papillomaviruses*. J Dent Res. 88(4):307-317.
- Culp T.D & Christensen N.D. 2004. *Kinetics of in vitro adsorption and entry of papillomavirus virions*. Virology 319:152-161.
- Darshan M.S. 2004. *The L2 minor capsid protein of human papillomavirus type 16 interacts with a network of nuclear import receptors*. J Virol. 78:12179 - 12188.
- DepKes RI. 2005. *Penanggulangan kanker serviks dengan vaksin HPV*. Departemen Kesehatan RI.
- Dixon E.P, Pahel G.L, Rocque W.J, Barnes J.A, Lobe D.C, Hanlon M.H, Alexander K.A, Chao S.F, Lindley K & Phelps W.C. 2000. *The E1 helicase of human papillomavirus type 11 binds to the origin of replication with low sequence specificity*. Virology. 270:345–357.
- Eassa BI, Bakr AA. 2011. *Intradermal injection of PPD as a novel approach of immunotherapy in anogenital warts in pregnant women*. Dermatologic Therapy; 24: 137–43.

- Evander M, Frazer I.H, Payne E, Qui Y.M, Hengst K & McMillan N.A. 1997. *Identification of the alpha6 integrin as a candidate receptor for papillomaviruses*. J. Virol. 71:2449–2456.
- Frattini M.G & Laimins L.A. 1994. *Binding of the human papillomavirus E1 origin recognition protein is regulated through complex formation with the E2 enhancer binding protein*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 91:12398–12402.
- Giroglu T, Florin L, Schäfer F, Streek R.E & M. Sapp. 2001. *Human papillomavirus infection requires cell surface heparan sulfate*. J. Virol. 75:1565–1570.
- Guanamony M, Peedicayil A & Abraham P. 2007. *An overview of Human papillomavirus and current vaccine strategies*. Ind J Med Micr. 25(1): 10-17.
- Hawley-Nelson P, Vousden K.H, Hubbert N.L, Lowy D.R. & Schiller J.T. 1989. *HPV16 E6 and E7 proteins cooperate to immortalize human foreskin keratinocytes*. EMBO J. 8:3905–3910.
- Hakim Lukman. 2010. *Biologi dan patogenesis human papilloma virus*. PKB “New Perspective of Sexually Transmitted Infection Problems”.
- Hindmarsh P.L & Laimins L.A. 2007. *Mechanisms regulating expression of the HPV 31 L1 and L2 capsid proteins and pseudovirion entry*. Virol J. 4:19.
- Hong Ying, Li Shu-Qin, Hu Ya-Li, Wang Zhi-Qun. 2013. *Survey of human papillomavirus types and their vertical transmission in pregnant women*. BMC Infectious Diseases, 13:109.
- HPV statistics. Available from: <http://hpv.emedtv.com/hpv/hpv-statistics.html>
- Huibregtse J.M, Scheffner M & Howley P.M. 1991. *A cellular protein mediates association of p53 with the E6 oncoprotein of human papillomavirus types 16 or 18*. EMBO J. 10:4129-4135
- Hum Song H, Lee JK, Oh MJ, Hur JY, Na JY, Park KY, et al. 2006. *Persistent HPV infection after conization in patients with negative margins*. Gynecol Oncol;101:418-22.
- Hutchinson ML, Agarwal P, Denault T, Berger B, Cibas ES. 1992. *A new look at cervical cytology*. ThinPrep multicenter trial results. Acta Cytol 36(4):499-504.

- Inoue M, Sakaguchi J, Sasagawa T, Tango M. 2006. *The evaluation of human papillomavirus DNA testing in primary screening for cervical lesions in a large Japanese population.* Int J Gynecol Cancer;16:1007-13.
- Jones D.L, Alani R.M & Munger K. 1997. *The human papillomavirus E7 oncoprotein can uncouple cellular differentiation and proliferation in human keratinocytes by abrogating p21 Cip1-mediated inhibition of cdk2.* Genes Dev. 11:2101–2111.
- Kaufman RH, Adam E, Vonka V . 2000. Human Papillomavirus infection and cervical carcinoma. Clin Obstet and Gynecol;43:363-80
- Kautsky LA, Kiavit NB. 2008. Genital human papillomavirus infection. In: Holmes KK, Sparling F, Stamm WE, Piot P, Wasserheit JN, Corey L, et al, editors. Sexually transmitted diseases. 4th ed. New York: McGraw-Hill; 489-508.
- Kilkenny M, Marks R. 1996. The descriptive epidemiology of warts in the community. Aust J Dermatol; 37: 80–6.
- Kitchener HC, Symonds P. 1999. *Detection of cervical intraepithelial neoplasia in developing countries.* Lancet; 353 – 856
- Kitchener HC, Castle PE, Cox JT. 2006. *Achievement and limitations of cervical cytology screening.* Vaccine;24S3:63-70.
- Klingelutz A.J, Foster S.A & McDougall J.K. 1996. *Telomerase activation by the E6 gene product of human papillomavirus type 16.* Nature. 380:79-82.
- Klumpp D. J & L.A Laimins. 1999. *Differentiation-induced changes in promoter usage for transcripts encoding the human papillomavirus type 31 replication protein E1.* Virology. 257:239–246.
- Ko L & Prives C. 1996. *p53: puzzle and paradigm.* Genes Dev. 10:1054-1072.
- Krivak TC, Mc broom JW, Elkas Js. 2002. *Cervical and vaginal cancer.* In: Berek JS, Adashi EY, Hillard PA (editor). Novak's ginekology. 13 th ed.
- Laniosz V, Holthusen K.A, Meneses P.I. 2008. *Bovine papillomavirus type 1: from clathrin to caveolin.* J Virol 82:6288-6298.

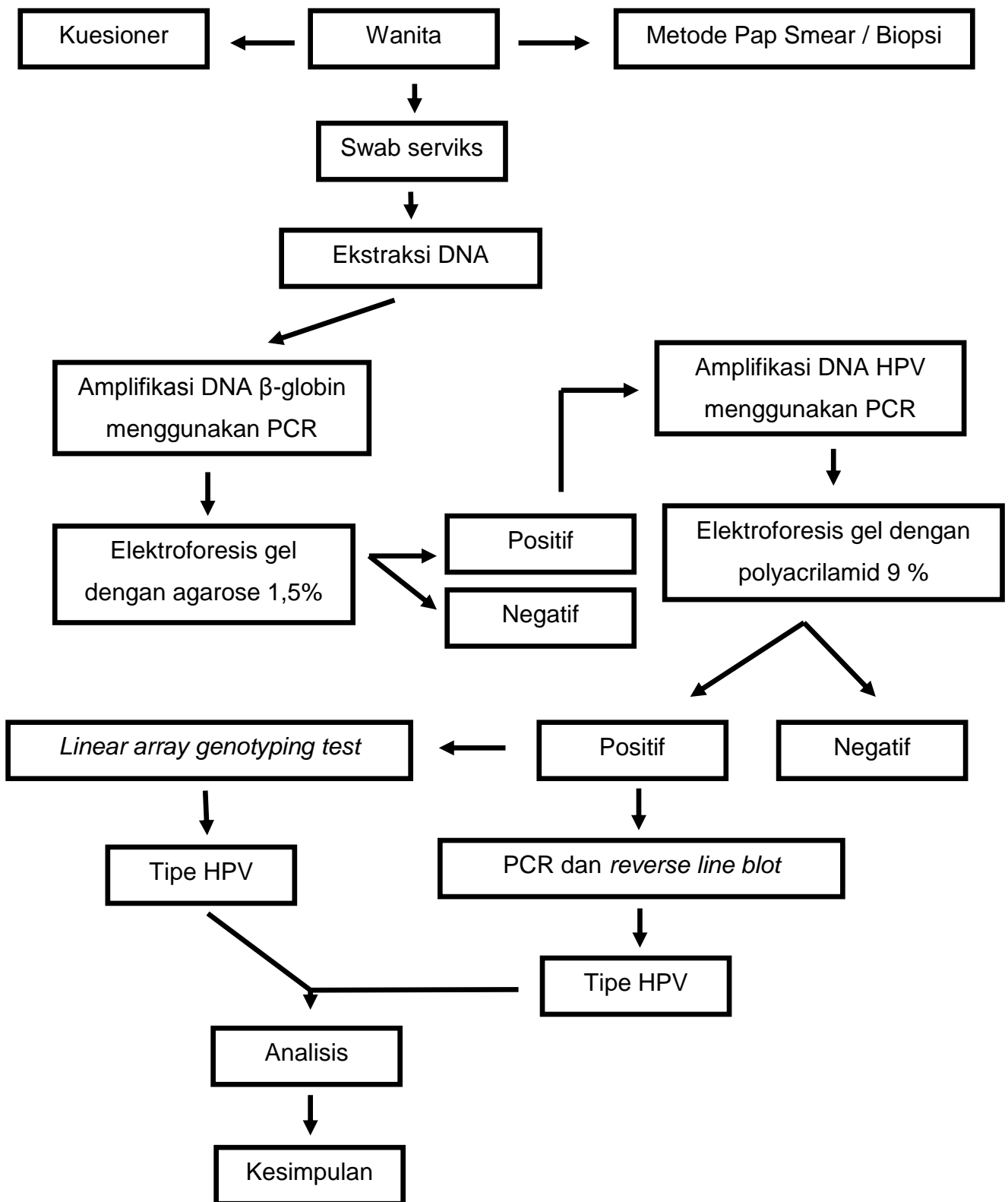
- Legra TL, Guerreiro TC. 2004. *Prevalence and risk factors in positive cervix cytology*
- Lembahmanah L. 2009. *Analisa faktor pendidikan pada wanita peserta program penapisan kanker leher rahim dengan pendekatan "See & Treat" untuk deteksi lesi prakanker dan pengobatan dengan terapi beku*. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Longworth M.S & Laimins L.A. 2004. *Pathogenesis of Human Papillomaviruses in Differentiating Epithelia*. *Micr Mol Biol Rev*. 68(2): 362-372.
- Longatto-Filho A, Erzaen M, Brnacas M, Roteli-Martins C, NaudP , Derchain SFM, et al. 2006. *Human Papillomavirus testing as an optional screening tool in low-resource settings of Latin America: experience from the Latin American screening study*. *Int J Gynecol Cancer*;16:955-62.
- Masterson P.J, Stanley M.A, Lewis A.P & Romanos M.A. 1998. *A C-terminal helicase domain of the human papillomavirus E1 protein binds E2 and the DNA polymerase alpha-primase p68 subunit*. *J.Virol*. 72:7407–7419.
- Modis Y, TrusB.L, Harrison S.C. 2002. *Atomic model of the papillomavirus capsid*. *EMBO J*. 21:4754–4762.
- Morrow CP, Curtin JP, Townsend DE. 1987. *Synopsis of gynecologic oncology* New York: Churchill livingstone
- Munger K,Baldwin A,Edward KM,Hayakawa H,Nguyen CL,Owens M,etal. 2004. *Mechanisms of Human Papillomavirus Induced Oncogenesis*. *J Virol*;78:11451-11460.
- Munoz S. 2003. *Epidemiologic classification of Human papillomavirus type in invasive servical cancer worldwide*. *N Engl J Med*. 348: 518-527.
- Nakamura T.M, Morin G.B, Chapman K.B, Weinrich S.L, Andrews W.H, Lingner J, Harley C.B & Cech T.R. 1997. *Telomerase catalytic subunit homologs from fission yeast and human*. *Science*. 277:955-959.
- NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. 2011. *Cervical cancer screening*. Version 1.

- Nelson L.M & Rose R.C.2002. Moroianu J. *Nuclear import strategies of high risk HPV16 L1 major capsid protein*. J Biol Chem. 277: 23958–23964.
- Noviana Hera. 2012. *Human papillomavirus dan kanker serviks*. CDK-189/ vol.39 no.1
- Novel SS, Safitri R, Harijanto SH, Nuswantara S. 2011.*Perbandingan beberapa metode molekuler dalam uji DNA HPV (Human papillomavirus)*. CDK 186/Vol. 38 no.5
- Novel SS, Safitri R, Nuswantara S. 2009.*Analisis Distribusi Gentipe HPV Dengan Metode Linear Array HPV Genotyping Test*.Bandung: Biologi FMIPA-UNPAD.
- Nuranna L. 2005. *Penanggulangan kanker serviks yang sah dan andal dengan metode proaktif – VO (Proaktif, koordinatif dengan skrining IVA dan terapi krio)*. Jakarta. Fakultas kedokteran Universitas Indonesia.
- Nuswantara S. 2007.*Dasar – dasar Molekuler*. Bandung: Laboratorium Bioteknologi Sandia Biotech Diagnostic Centre, Santosa Bandung International Hospital.
- Park TW, Fujiwara H, Wright TC. 1995. *Molekular Biology of cervical Cancer and Its Precursors*. Cancer;76:1902-13.
- Park IA, Lee SN, Chae SW, Park KH, Kim JW, Lee HP. 2001. *Comparing the accuracy of ThinPrep Pap tests and conventional Papanicolaou smears on the basis of the histologic diagnosis: a clinical study of women with cervical abnormalities*. Acta Cytol 45(4):525-531.
- Parkin DM, Bray F. 2006. *The burden of HPV related cancers*. Vaccine;24:11-25.
- Pretoriun R, Semrad N, Watring W, Fotherongham N. 1991. *Presentation of cervical cancer*. Gynecol Oncol; 42; 48 – 52
- Rasjidi I. 2008. *Manual prakanker serviks*. Jakarta
- Riley R.R, Duensing S, Brake T, Munger K, Lambert P.F & Arbeit J.M. 2003. *Dissection of human papillomavirusE6 and E7 function in transgenic mouse models of cervical carcinogenesis*. Cancer Res. 63:4862–4871.

- Sedman J & Stenlund A. 1998. *The papillomavirus E1 protein forms a DNA dependent hexameric complex with ATPase and DNA helicase activities*. J. Virol. 72:6893–6897.
- Sheu B.C, Chang W.C, Lin H.H, Chow S.N & Huan S.C. 2007. *Immune concept of human papillomavirus and related antigens in local cancer milieu of human cervical neoplasia*. J. Obst. Gynecol. 2: 103-113.
- Shin B, Dubeau L. 2001. *Cell cycle abnormalities in squamous cell carcinoma of the cervix*. CME Journal of Gynecologic Oncology; 6:167:72.
- Soegiyanto H. 2008. *Paritas penduduk di Daerah pedesaan kabupaten klaten Jawa Tengah*. Surakarta.
- Steinau M, Onyekwuluje JM, Scarbrough MZ, Unger ER, Dillner J, Zhou T. 2012. *Performance of commercial reverse line blot assays for human papillomavirus genotyping*. J Clin Microbiol 50(5):1539-1544.
- Sudjadi. 2008. *Bioteknologi Kesehatan*. Yogyakarta: Kanisius.
- Tambunan, Butar-Butar, Umbas, Hidayah. 2007. *Conserved region and analysis of oncogenic human papillomavirus genome*. Biotechnology; 6(1):93-96.
- Van Doorn LJ, Quint W, Kleter B, Olivera HS. 2002. *Genotyping of Human Papillomavirus in Liquid Cytology Cervical Specimens by the PGM1 Line Blot Assay and the SPF10 Line Probe Assay*. Clin. Microbiol. 40(3): 979-83.
- Van Hamont D, van Ham MAPC, Bakkens JMJ, Massuger LFAG, Melchers WJG. 2006. *Evaluation of The SPF10-INNO LiPA Human Papillomavirus (HPV) Genotyping Test and the Roche Linear Array HPV Genotyping Test*. Clin. Microbiol. 2006; 44(9): 3122-9.
- Veldman T, Liu X, Yuan H & Schlegel R. 2003. *Human papillomavirus E6 and Myc proteins associate in vivo and bind to and cooperatively activate the telomerase reverse transcriptase promoter*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 100:8211-8216.
- Villa L.L. 2006. *Immunologic responses following administration of a vaccine targeting human papillomavirus Types 6, 11, 16, and 18*; Vaccine; 24; 5571–5583

- Werness B.A, Levine A.J. & Howley P.M. 1990. *Association of human papillomavirus types 16 and 18 E6 proteins with p53*. *Science*. 248:76-79.
- WHO/ICO Information Centre on HPV and Cervical Cancer (HPV Information Centre). Human papillomavirus and related cancers. Summary Report Update. 3rd edition. 2010. Available from: www.who.int/hpvcentre
- WHO. 2006. *Comprehensive Cervical Cancer Control. A guide to Essential Practice*. Geneva: WHO.
- Woodman CBJ, Collins SI, Young LS. 2007. The natural history of cervical HPV infection: unresolved issue. *Nat Rev*; 7:11-22.
- Yoon C.S, Kim K.D, Park S.N & Cheong S.W. 2001. *alpha(6) Integrin is the main receptor of human papillomavirus type 16 VLP*. *BiochemBiophys Res Commun*.283:668-673.
- Yenny SW, Hidayah R. 2013. *Kondiloma akuminata pada wanita hamil*. *Jurnal kesehatan andalas*.
- Yuwono T. 2006. *Teori dan Aplikasi PCR*. Yogyakarta: Penerbit Andi.
- Yuwono T. 2005. *Biologi Molekuler*. Jakarta: Erlangga.
- Zimmermann H, Degenkolbe R, Bernard H.U & O'Connor M.J. 1999. *The human papillomavirus type 16 E6 oncoprotein can down-regulate p53 activity by targeting the transcriptional coactivator CBP/p300*. *J. Virol*. 73:6209-6219.
- Zur Hausen, H. 1999. *Papillomaviruses in human cancers*. *Proc. Assoc.Am.Physicians*. 111:581–587.
- Zur Hausen H. 2002. *Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application*. *Nat. Rev.Cancer*. 2:342–350.

LAMPIRAN 1. ALUR KERJA PENELITIAN



LAMPIRAN 2. HASIL BLAST β - GLOBIN GEN

Range 1: 62010 to 62027

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
36.2 bits(18)	9e-06	18/18(100%)	0/18(0%)	Plus/Plus

```

Query 1      AAGAGCCAAGGACAGGTA 18
          |
Sbjct 62010  AAGAGCCAAGGACAGGTA 62027
  
```

Range 1: 62258 to 62275

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
36.2 bits(18)	9e-06	18/18(100%)	0/18(0%)	Plus/Minus

```

Query 1      AACTTCATCCACGTTTAC 18
          |
Sbjct 62275  AACTTCATCCACGTTTAC 62258
  
```

ORIGIN

```

61921 ggtatggggc caagagatat atcttagagg gagggctgag ggtttgaagt ccaactccta
61981 agccagtgcc agaagagcca aggacaggtacggctgtcat cacttagacc tcaccctgtg
62041 gagccacacc ctagggttgg ccaatctact cccaggagca gggagggcag gagccagggc
62101 tgggcataaa agtcagggca gagccatcta ttgcttacat ttgcttctga cacaactgtg
62161 ttcactagca acctcaaaca gacaccatgg tgcacctgac tctgaggag aagtctgccg
62221 ttactgccct gtggggcaaggtgaacgtgg atgaagttgg tggtgaggcc ctgggcaggt
62281 tggtatcaag gttacaagac aggtttaagg agaccaatag aaactgggca tgtggagaca
  
```

LAMPIRAN 3. HASIL BLAST HPV (L1) GEN

Range 1: 989 to 1008

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
24.3 bits(12)	0.001	18/20(90%)	0/20(0%)	Plus/Plus

```

Query 1      TTTGTTACTGTGGTAGATAC  20
          ||||| ||||| |||||
Sbjct 989    TTTGTAAGTGTGGTAGATAC  1008
  
```

Range 1: 1114 to 1133

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
32.2 bits(16)	5e-06	19/20(95%)	0/20(0%)	Plus/Minus

```

Query 1      GAAAAATAAACTGTAAATCA  20
          |||| |
Sbjct 1133   GAAATATAAACTGTAAATCA  1114
  
```

ORIGIN

```

1  gataactatg tggcggccta atgacaacaa agtataacctg cctcctccag gccctatagc
61  atctattgta agcacagatg aatatgtgca gcgcaccaac ttattttacc atgctggcag
121  ttcccgttta cttgctgtgg gccacccttt ttttcctata aaaaataatt ctggtaaagt
181  aattgttcct aaagtttcag gtcaccaata taggggtgttt agagttaaatt taccagatcc
241  taataaattt ggtttttcag aaacaacatt agttacctca gacaccagc  gtttagtatg
301  gggttgtgtg ggagttgaaa ttggtagagg acaaccctta ggtgttgcaa taagtggcca
361  tccctattta aataagtatg atgacattga aaaccctct  gggtaggcaa catcaccagg
421  acaagataac agagaaaacg tagcaatgga ttataaacia acacagctat gtattgttgg
481  ctgtacacct cccatgggcg aatattgggg caagggagtt cctgtagca  cctcaggtat
541  tacacaaggt gattgtcctg taatagaatt aaaaagtgaa gttatagagg atggtgatat
601  ggtagataca gggtttggtg cacttgattt tgcacacctt caagccagta aaagtgcagt
661  gcccttagat ttatgtaata ctaaaagcaa atatccagat tatttaggaa tggcagccga
721  gccatacggg aatagtttat ttttcttttt acgtagggaa caaatgtttg ttagacattt
781  ctttaataag gctggtacta caggcgatgc tgtccctcag gatttgtata ttgcaggaac
841  aggcaacagg gcgaaaatag caggcagtat atattattct actcctagtg ggtctttagt
901  aacttcagat tctcaattgt ttaacaaacc gctttggatg caaaaagcac agggacataa
961  taacggcatc tgttttggtg accaggtgtt tgtaactggt gtagatacaa ctgcgagcac
1021 taacttaacc ttgtgtgcat ccactgagtc tgtgctacct actacatag acaacacaaa
1081 gttcaaagaa tattaaggc atgcagaaga atttgattta cagtttatat ttcaattatg
1141 cattataaca cttaatccag aggtaatgac atacatccac actatggatg catcattatt
1201 agaagactgg aactttgggg tatcccctcc aagccacgga tcaactagagg atacttatcg
1261 ctttttggtc aataaggcaa ttacctgtca aaaaaatgct ccacaaaag ccaaaggaga
1321 cccatacaaa aactatactt tttgggatgt ggatcttacc gaaaggtttt ctgcacaact
1381 tactcaattt ccattaggac gcaaatttgt tatgcaggct ggattacgct ctaggcctaa
  
```

LAMPIRAN 4. Hasil Blast Probe HPV 16 yang digunakan dalam metode PRELIB

Range 1: 999 to 1030

	Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
	63.9 bits(32)	2e-12	32/32(100%)	0/32(0%)	Plus/Plus
Query	16	GTCATTATGTGCTGCCATATCTACTTCAGAAC	47		
Sbjct	999	GTCATTATGTGCTGCCATATCTACTTCAGAAC	1030		

ORIGIN

```

1 actgtctact tgcctcctgt cccagtatct aaagttgtaa gcacggatga atatgttgca
61 cgcacaaaca tatattatca tgcaggaaca tccagactac ttgcagttgg acatccctat
121 tttcctatta aaaaacctaa caataacaaa atattagttc ctaaagtatc aggattacaa
181 tacaggggat ttagaatata tttacctgac cccaataagt ttggttttcc tgacacctca
241 ttttacaatc cagatacaca gcggtggtt tgggcctgtg taggtgttga ggtaggtcgt
301 ggtcagccat taggtgtggg cattagtggc catcctttat taaataaatt ggatgacaca
361 gaaaatgcta gtgcttatgc agcaaatgca ggtgtggata atagagaatg tataatctatg
421 gattacaaac aaacacaatt gtgtttaatt ggttgcaaac cacctatagg ggaacactgg
481 ggcaaaggat ccccatgtaa caatgttgca gtaactccag gtgattgtcc accattagag
541 ttaataaaca cagttattca ggatggtgat atggttgata cgggctttgg tgctatggac
601 tttactacat tacaggctaa caaaagtgaa gttccactgg atatttgtac gtctatgttc
661 aatatccag attatattaa aatgggtgca gaaccatatg gcgacagctt atttttttat
721 ttacgaaggg aacaaatggt tgtagacat ttatttaata gggctggtgc tgttggtgaa
781 aatgtaccag acgatttata cattaaaggc tctgggccta ctgcaaattt agccagttca
841 aattattttc ctacacctag tggttctatg gttacctctg atgcccacaa atttaataaa
901 ccttattggt tacaacgagc acagggccac aataatggca tttgttgggg taaccaacta
961 tttgttactg ttgttgatac tacacgcagt acaaatatgt cattatgtgc tgccatatct
1021 acttcagaac ctacatataa aaataactaac tttaaagagt acctacgaca tggggaggaa
1081 tatgatttac agtttatttt tcaactgtgc aaaataacct taactgcaga cgttatgaca
1141 tacatacatt ctatgaattc cactattttg gaggactgga attttggttt acaacctcct
1201 ccaggaggca cactagaaga tacttatagv tttgtaacat ccaggcaat tgcttgtaa
1261 aacatacac ctccagcacc taaagaagat ccccttaaaa aatatacttt tgggaagta
1321 aatttaaaag aaaagttttc tgcagaccta gatcagtttc ctttaggacg caaattttta
1381 ctacaagcag gatttaaggc caaaccaaaa tttacattag gaaaacgaaa agctacacc
1441 accacctcat ctacctctac aactgctaaa cgcaaaaaac gtaa

```


LAMPIRAN 5. Hasil Blast Probe HPV 18 yang digunakan dalam metode PRELIB

Range 1: 1218 to 1248

	Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
	61.9 bits(31)	7e-07	31/31(100%)	0/31(0%)	Plus/Plus
Query	16	TGCTTCTACACAGTCTCCTGTACCTGGGCAA			46
Sbjct	1218	TGCTTCTACACAGTCTCCTGTACCTGGGCAA			1248

ORIGIN

```

1 atgtgcctgt atacacgggt cctgatatta cattaccatc tactacctct gtatggccca
61 ttgtatcccc cacagcccct gcctctacac agtatattgg tatacatggt acacattatt
121 atttgtggcc attatattat tttattccta agaaacgtaa acgtgttccc tatttttttg
181 cagatggcct tgtggcggcc tagtgacaat accgtatata ttccacctcc ttctgtggca
241 agagttgtaa ataccgatga ttatgtgact cgcacaagca tattttatca tgctggcagc
301 tctagattat taactgttgg taatccatat tttagggttc ctgcagggtg tggcaataag
361 caggatattc ctaaggtttc tgcataccaa tatagagtat ttaggggtgca gttacctgac
421 ccaaataaat ttggtttacc tgatactagt atttataatc ctgaaacaca acgtttagtg
481 tgggcctgtg ctggagtgga aattggccgt ggtcagcctt taggtgttgg tcttagtggg
541 catccattht ataataaatt agatgacact gaaagttccc atgccgccac gtctaattgtt
601 tctgaggacg ttagggacaa tgtgtctgta gattataagc agacacagtt atgtatthttg
661 ggctgtgccc ctgctatttg ggaacactgg gctaaaaggca ctgcttgtaa atcgctccg
721 ttatcacagg gcgattgccc ccctttagaa cttaaaaaaca cagthtttga agatgggtgat
781 atggtagata ctggatatgg tgccatggac tttagtagat tgcaagatac taaatgtgag
841 gtaccattgg atatthtca gtctattht aaatatcctg attatthtaca aatgtctgca
901 gatccttatg gggattccat gthtttttgc ttacggcgtg agcagcttht tgctaggcat
961 thttggaata gagcaggtag tatgggtgac actgtgcctc aatccttata tattaaggc
1021 acaggtagtc gtgcttcacc tggcagctgt gtgtattctc cctctccaag tggctctatt
1081 gttacctctg actcccagtt gthtaataaa ccatattggt tacataaggc acagggtcat
1141 aacaatggtg thtgtggca taatcaatta thtgttactg tggtagatac cactcgcagt
1201 accaathtaa caatatgtgc ttctacacag tctcctgtac ctgggcaata tgatgctacc
1261 aaathtaagc agtatagcag acatgttgag gaatatgatt tgcagthttat thttcagttg
1321 tgtactatta cthtaactgc agatgttatg tcctatattc atagtagtaa tagcagtatt
1381 ttagaggatt ggaactthtg tgttcccccc ccgccaacta ctagthttggt ggatacatat
1441 cgtthttgtac aatctgttgc tattacctgt caaaaggatg ctgcaccggc tgaataaag
1501 gatccctatg ataagthtaa gthtttgaat gtggatthaa aggaaaagtt thctthtagc
1561 ttagatcaat atccccttg acgthaaatt thtggthcagg ctggatthcg tgcgaagccc
1621 accataggcc ctgcgaaacg thctgtctca tctgccacta cgtcttctaa acctgccaag
1681 cgtgtgcgtg tacgtgccag gaagtaa

```

LAMPIRAN 6. Hasil Blast probe HPV 31 yang digunakan dalam metode PRELIB

Range 1: 6582 to 6612

	Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
	61.9 bits(31)	7e-07	31/31(100%)	0/31(0%)	Plus/Plus
Query	15	CTGTTTGTGCTGCAATTGCAAACAGTGATAC			45
Sbjct	6582	CTGTTTGTGCTGCAATTGCAAACAGTGATAC			6612

ORIGIN

```

6481 accatattgg atgcaacgtg ctcagggaca caataatggt atttgttggg gcaatcagtt
6541 atttgttact gtggtagata ccacacgtag taccaatatg tctgtttgtg ctgcaattgc
6601 aaacagtgat actacattta aaagtagtaa ttttaaagag tatttaagac atggtgagga
6661 atttgattta caatttatat ttcagttatg caaaaataaca ttatctgcag acataatgac
6721 atatattcac agtatgaatc ctgctatttt ggaagattgg aattttggat tgaccacacc
6781 tccctcaggt tctttggagg atacctatag gtttgtcacc tcacaggcca ttacatgtca
6841 aaaaactgcc ccccaaaagc ccaaggaaga tccatttaaa gattatgtat tttgggaggt
6901 taatttaaaa gaaaagtttt ctgcagattt agatcagttt ccaactgggtc gcaaattttt
6961 attacaggca ggatataggg cacgtcctaa atttaaagca ggtaaacgta gtgcaccctc
7021 agcatctacc actacaccag caaaacgtaa aaaaactaaa aagtaatgga tgtgtatgta
7081 atacatgtgt ctgtatgtgt atgtgcttgt gctgtattgt atatgtgtgt gtttgtgtgt
7141 tataatgggt atatgtatgt ttatgtatgc gtgtgtactt gtatatatgt atagtatggt
7201 atgtgtgtat gtatgctatg tatgttaata aatatgtgta tacctgtgtg tgttgtgtat
7261 gttgtcctta tatacaccct attagtaaca tactattact attttataaa ctattgttcc
7321 tacttgttcc tacttgttcc tgctcctccc aatagtcag tacttatttc tgcctataat
7381 ttaggtgtca cgccatagta aaagttgtac acccgtccg ttttttgcaa ctaaagctac
7441 tccattttga ttttatgcag ccattttaaa tccctaaccg ttttcggttg cattgtttaa
7501 acatgctagt acaactatgc tgatgcagta gttctgcggt ttttggttcc ctgaatacta
7561 gtttttgcca acattctggc ttgtagtttc ctgcctaaca caccttgcca acatataatc
7621 cagtccaact ttgcaattat actatgaatc atgtttgttt aaatacaact gtagtccaac
7681 tatgtgtcat gcacatatat tatattatcc tacacacctt aaactgcttt taggcacata
7741 tttttagatg tatctatata cttgattgca gtgctggctt ttgcacatgt ttaaactgcc
7801 aaggttgtgt catgcattat aaataagttg tatgttactc atataattaa ttgcatatag
7861 gtattacacc gttttcgggtt acagttttac aagcaattgt tctttttata ct

```

LAMPIRAN 7. Hasil Blast probe HPV 33 yang digunakan dalam metode PRELIB

Range 1: 6620 to 6652

	Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
	65.9 bits(33)	4e-08	33/33(100%)	0/33(0%)	Plus/Plus
Query	14	ACTTTATGCACACAAGTAACTAGTGACAGTACA			46
Sbjct	6620	ACTTTATGCACACAAGTAACTAGTGACAGTACA			6652

ORIGIN

```

6601 cactcgcagt actaatatga ctttatgcac acaagtaact agtgacagta catataaaaa
6661 tgaaaatfff aaagaatata taagacatgt tgaagaatat gatctacagt ttgtttttca
6721 actatgcaaa gttaccttaa ctgcagaagt tatgacatat attcatgcta tgaatccaga
6781 tattttagaa gattggcaat ttggtttaac acctcctcca tctgctagtt tacaggatac
6841 ctataggfff gttacctctc aggctattac gtgtcaaaaa acagtacctc caaaggaaaa
6901 ggaagacccc ttaggtaaat atacatfff ggaagtggat ttaaaggaaa aatfffcagc
6961 agatfftagat cagfffctct tgggacgcaa gttfffatta caggcaggtc ttaaagcaaa
7021 acctaaactt aaacgtgcag cccccacatc caccgcaca tcgtctgcaa aacgcaaaaa
7081 ggftaaaaaa taacactffg tgtaattgtg ttatgffgff gttffgffct gtctatgtac
7141 tffgtgffg tfgffgffg tffgffgffg tffftgffg tfgffgffca tfgffgffat
7201 gffgffgff actfgffgff tffftatgff actfgffgff gffgffgffc tatgffgffg
7261 fcagfffcct gfffgffgff atgfftaata aacfffgffg gffatffgff aactfffgff
7321 atgffatgff tffatffgff gffacffata fgagffagff gffgffatff ffgccffac
7381 cffgffatff atffacffac cfffatfffc cffatfffgff agffacffca gffffgffat
7441 fgfffcffct fffgffacac tagffgffca atffgffcaat ffccffcaat ffgffatgff
7501 aaccgffffc gffffactffg cffacffacc cffatffgff gffcagffac ffatffccff
7561 fcfffcffgc actfgffgffg fcffgffactff cffgffatffg atffacffcc ffatffgffg
7621 gcagffacag ffatffccfffc cfffcffgff cffgffgffgff cffgffactffg ffgffatgff
7681 cffatffata ffagffgffca ffgffaaaaa cfftaattffg cffatffgff acffatgff
7741 ffagffcacat atffffactff ffctffcaaa cfftaagffg agffffgffc ffacffatffg
7801 cfffgffatff caaactffg cffgffaaaag ffagffcacta cffgffatff accffgffgff
7861 gfftaaccffg fffagffgff atffgffcatt ffataatfffc ffatffataa

```

LAMPIRAN 8. Hasil Blast Probe HPV 35 yang digunakan dalam metode PRELIB

Range 1: 6602 to 6631

	Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
	60.0 bits(30)	3e-06	30/30(100%)	0/30(0%)	Plus/Plus
Query	16	GTCTGTGTGTTCTGCTGTGTCTTCTAGTGA			45
Sbjct	6602	GTCTGTGTGTTCTGCTGTGTCTTCTAGTGA			6631

ORIGIN

```

6421 ccactggcac attgcctagt actagttatt ttcctactcc tagtggctct atggtaacct
6481 ccgatgcaca aatatttaaat aaaccatatt ggttgcaacg tgcacaaggc cataataatg
6541 gtatattggtg gagtaaccaa ttgtttgtta ctgtagttga tacaaccogt agtacaataa
6601 tgtctgtgtg ttctgctgtg tcttctagtg acagtacata taaaaatgac aattttaagg
6661 aatatttaag gcatggtgaa gaatatgatt tacagtttat ttttcagtta tgtaaaataa
6721 cactaacagc agatggtatg acatatattc atagtatgaa cccgtccatt ttagaggatt
6781 ggaattttgg ccttacacca cgccttctg gtaccttaga ggacacatat cgctatgtaa
6841 catcacaggc tgtaacttgt caaaaaccca gtgcacaaa acctaaagat gatccattaa
6901 aaaattatac tttttgggag gttgatttaa aggaaaagt tctgcagac ttagatcagt
6961 ttccgttggg ccgtaaattt ttgttacaag caggactaaa ggccaggcct aattttagat
7021 taggcaggcg tgcagctcca gcatctacat ctaaaaaatc ttctactaaa cgtagaaaag
7081 taaaaagtta atgtgtaaat gtgtatgcat gtatactgtg tgttatgtgt tgtagtgcct
7141 gtatatatat tatgtgttgt ggtgcctgtt tgtgtgttac atggcgtgta aatgtgtgta
7201 taatattgtg caatgtgttg tacgtgggtg tttttgtact tagtgtgtag tagttcagta
7261 gccataaagt gatgtgtgtg tttataatta acactgtatt gttgtatgac tatgggtcac
7321 cgatatgagc ttacataatt acatgacagc tatattgtgt atataaataa tctacctcca
7381 ttttgtgtgt tagtgtcctt tacattacct ttcaaccgat ttcggttgct gttggttaagc
7441 tttatatggt ttttacaaaa acattcctac ctcagcagaa cacttaatcc ttgtgttcct
7501 gatatatatt gtttgccaac tttatattgg cttttgcaa tctttaaact tgattcatct
7561 tgcagtatta gtcatttttc atacttgtgg tccaccaca cttgtaacac ttgtaacagt
7621 gcttttaggc acatattttt tgcatttcta aagggttcta attgcacacc ttggctttac
7681 atattatgtg tgtttgcca caccacccta cacatcctgc caactttaag ttaaaacatg
7741 catgtaaac attactcact gtattacaca ttgttatatg cacacagggt tgtccaaccg
7801 atttggatta cagttttata agcatttctt tttattatag ttagtaacaa t

```

LAMPIRAN 9. Hasil Blast Probe HPV 39 yang digunakan dalam metode PRELIB

Range 1: 6672 to 6703

	Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
	63.9 bits(32)	2e-07	32/32(100%)	0/32(0%)	Plus/Plus
Query	16	TCTACCTCTATAGAGTCTTCCATACCTTCTAC			47
Sbjct	6672	TCTACCTCTATAGAGTCTTCCATACCTTCTAC			6703

ORIGIN

```

6481 atatacgtgc aacccccggt agttctgtat actgccctc tcccagcggg tccatggtaa
6541 cctctgattc ccagttattt aataagcctt attggctaca taaggcccag ggccacaaca
6601 atggatatatg ttggcataat caattatttc ttactgttgt ggacactacc cgtagtacca
6661 actttaccct gtctacctct atagagtctt ccataccttc tacatataatgat ccttctaagt
6721 ttaaggaata taccaggcac gtggaggagt atgatttaca atttatattt caactgtgta
6781 ctgtaacatt aacaactgat gttatgtcct atattcacac tatgaattcc tctatattgg
6841 acaattggaa ttttgctgta gctcctccac catctgccag tttggtagac acttacagat
6901 acttacagtc tgcagccatt acatgtcaaa aggatgctcc agcacctgaa aagaaagatc
6961 catatgacgg tctgaagttt tggaaatggt acttaagggg aaagtttagt ttggaacttg
7021 atcaattccc tttgggacgt aaatttttgt tgcaggccag ggtacgcagg cgccctacta
7081 taggtccccg aaagcggcct gctgcatcca cttcctcgtc ctcagctact aaacacaaac
7141 gtaaacgtgt gtctaaataa tgcattgtgta tgccttgta tgtgtgtgta tgtttttgtt
7201 ttactttatgt gttgagtgta tatgtgtatg tttgcaggta tgtgtgtata tgtttttgtt
7261 aataaagtat gtatgacagt ttcattgtgtg attgcacacc ctgtgactaa cagtgtattt
7321 attttacata taataggtct gcaacatttc atacataatc tatatgccct accctaaggt
7381 gtgtttacta cctaatatgt gatttttaca ttgttgtatg cgtttctaca ttttttactt
7441 cgccattttg tggcgaccga agtcggtcct gggttcagca tttttttaa actagtggaa
7501 accacctttc tcagcaaaaa catgtcttta ccttaggttt accctgcata gttggcactg
7561 gtaacagttt tctggcgcg ccttattact catcatcctg tccagggtgca ctgcaacaat
7621 actttggcaa catccatata tccaccctat gtaataaaac tgcttttagg catatatttt
7681 agctgttttt acttgcttaa ttgaatagtt ggctgtata actacttttt aattcaagaa
7741 tgtgtcttac agtataagtt atacaagtga ctaatgtagc acacaatagt ttatgcaacc
7801 gaaatagggt gggcatacat acctatactt tta

```

LAMPIRAN 10. Hasil Blast Probe HPV 45 yang digunakan dalam metode PRELIB

Range 1: 2558 to 2592

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
61.9 bits(31)	7e-07	34/35(97%)	0/35(0%)	Plus/Plus

```

Query 16 ACACAAAATCCTGTGCCAAGTACATATGACACTAC 50
          |||
Sbjct 2558 ACACAAAATCCTGTGCCAAGTACATATGACCCTAC 2592
  
```

ORIGIN

```

1741 acccgatcct aataaatttg gattacctga ttctactata tataatcctg aaacacaacg
1801 tttggtttgg gcatgtgtag gtatggaaat tggtcgtggg cagcctttag gtattggcct
1861 aagtggccat ccattttata ataaattgga tgatacagaa agtgctcatg cagctacagc
1921 tgttattacg caggatgtta gggataatgt gtcagttgat tataagcaaa cacagctgtg
1981 tatttttaggt tgtgtacctg ctattgggtga gcaactggcc aagggcacac tttgtaaacc
2041 tgcacaattg caacctggtg actgtcctcc tttggaactt aaaaacacca ttattgagga
2101 tggatgatag gtggatacag gttatggggc aatggatttt agtacattgc aggatacaaa
2161 gtgcgagggt ccattagaca tttgtcaatc catctgtaaa tatccagatt atttgcaaat
2221 gtctgctgat ccctatgggg attctatggt tttttgccta cgccgtgaac aactgtttgc
2281 aagacatfff tggaataggg cagggtgttat gggtgacaca gtacctacgg acctatata
2341 taaaggcact agcgctaata tgcgtgaaac ccctggcagt tgtgtgtatt ccccttctcc
2401 cagtggctct attattactt ctgattctca attatttaat aagccatatt ggttacataa
2461 ggcccagggc cataacaatg gtatttgttg gcataatcag ttgtttgtta ctgtagtgga
2521 cactaccgcg agtactaatt taacattatg tgcctctaca caaaatcctg tgccaagtac
2581 atatgaccct actaagtffa agcagtatag tagacatgtg gaggaatatg atttacagtt
2641 tatttttcag ttgtgcacta ttactttaac tgcagaggtt atgtcatata tccatagtat
2701 gaatagtagt atattagaaa attggaatff tgggtgccct ccaccaccta ctacaagfff
2761 ggtggataca tatcgttttg tgcaatcagt tgctgttacc tgtcaaaagg atactacacc
2821 tccagaaaag caggatccat atgataaatt aaagtttttg actgttgacc taaaggaaaa
2881 attttctctc gatttggatc aatatcccct tggtcgaaaag tttttagttc aggctggggt
2941 acgtcgtagg cctaccatag gacctcgtaa gcgtcctgct gcttccacgt ctactgcatc
3001 tactgcatct aggcctgcca aacgtgtacg tatacgtagt aagaaataat atgtttag
  
```

LAMPIRAN 11. Hasil Blast Probe HPV 51 yang digunakan dalam metode PRELIB

Range 1: 2423 to 2452

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
60.0 bits(30)	3e-06	30/30(100%)	0/30(0%)	Plus/Plus

```

Query 16      AGCACTGCCACTGCTGCGGTTTCCCCAACA 45
          |||
Sbjct 2423    AGCACTGCCACTGCTGCGGTTTCCCCAACA 2452
  
```

ORIGIN

```

1801 tgcacaacaa gatgtagag ataacacatc tgttgacaac aaacagactc agttatgtat
1861 aataggctgt gctccaccta ttggggaaca ctgggggtatt ggcactacat gcaaaaacac
1921 acctgtacct ccaggagact gcccccccct ggaacttgta tcctctgta ttccaggatgg
1981 cgatatgatt gatacagggg ttggagctat ggatttcgct gccctacagg ccaccaaatc
2041 agacgtccct ttggatattt cacagtctgt ttgtaaatat cctgattatt taaaaatgtc
2101 tgcagacaca tatggtaatt ccatgttttt tcatttacgc agggagcaaa tctttgctag
2161 gcactattat aataaacttg gtagtggttg ggaagacatt cctaacgatt attatattaa
2221 gggtagtggt aatggccgtg accctataga aagttatata tactctgcta ctcccagtgg
2281 gtctatgata acatctgatt ctcaaatttt taataagcct tattggctcc accgtgcgca
2341 gggtcacaat aatggcattt gctggaacaa tcagcttttt attacctgtg ttgatactac
2401 cagaagtaca aatttaacta ttagcactgc cactgctgcg gtttcccaa catttactcc
2461 aagtaacttt aagcaatata ttaggcatgg ggaagagtat gaattgcaat ttatttttca
2521 attatgtaaa attactttta ctacagaggt aatggcttat ttacacacaa tggatcctac
2581 cattcttgaa cagtggaatt ttggattaac attacctccg tctgctagtt tggaggatgc
2641 atataggttt gttagaaatg cagctactag ctgtcaaaaag gacaccctc cacaggctaa
2701 gccagatcct ttggccaaat ataaattttg ggatggtgat ttaaaggaac gattttcttt
2761 agatttagac caatttgcac tgggtcgcaa gtttttggtg cagggtggcg tacaacgcaa
2821 gccagacca ggccttaaac gccggcctc atcggcatcc tcttctctt cctcttcagc
2881 caaacgtaaa cgtgttaaaa agtaa
  
```

LAMPIRAN 12. Hasil Blast Probe HPV 52 yang digunakan dalam metode PRELIB

Range 1: 1128 to 1158

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
61.9 bits(31)	7e-07	31/31(100%)	0/31(0%)	Plus/Plus

```

Query 16      TGCTGAGGTTAAAAAGGAAAGCACATATAAA 46
          |||
Sbjct 1128    TGCTGAGGTTAAAAAGGAAAGCACATATAAA 1158
  
```

ORIGIN

```

1 atggtacaga ttttatttta catcctagtt attttttact acgtcgcagg cgtaaacgtt
61 ttccatattt ttttacagat gtcccggtgg cggcctagtg aggccactgt gtacctgcct
121 cctgtacctg tctctaaggt tgtaagcact gatgagtatg tgtctcgcac aagcatctat
181 tattatgcag gcagttctcg attactaaca gtaggacatc cctatTTTTTc tattaAAAac
241 accagtagtg gtaatggtaa aaaagTTTTa gttcccaagg tgtctggcct gcaatacagg
301 gtatttagaa ttaaattgcc ggaccctaata aaatttgggt ttccagatac atctttttat
361 aaccagaaa cccaaagggt ggtgtgggcc tgtacaggct tggaaattgg taggggacag
421 ccttaggtg tggtatttag tgggcatcct ttattaaaca agtttgatga tactgaaacc
481 agtaacaaat atgctggtaa acctgggata gataataggg aatgtttatc tatggattat
541 aagcagactc agttatgcat tttaggatgc aaacctccta taggtgaaca ttggggtaag
601 ggaaccctt gtaataataa ttcaggaaat cctggggatt gtccctccct acagctcatt
661 aacagtgtaa tacaggatgg ggacatggta gatacaggat ttggttgcac ggattttaat
721 accttgcaag ctagtaaaag tgatgtgccc attgatatat gtagcagtgt atgtaagtat
781 ccagattatt tgcaaatggc tagcgagcca tatggtgaca gtttgttctt ttttcttaga
841 cgtgagcaaa tgtttgtagt aactTTTTTt aatagggccg gtaccttagg tgaccctgtg
901 ccaggtgatt tatatataca aggttctaac tctggcaata ctgccactgt acaaagcagt
961 gctTTTTTtc ctactcctag tggttctatg gtaacctcag aatcccaatt atttaataaa
1021 cgtactggg tacaacgtgc gcagggccac aataatggca tatgttgggg caatcagttg
1081 tttgtcacag ttgtgggata cactcgtagc actaacatga ctttatgtgc tgaggttaaa
1141 aaggaaagca catataaaa tgaaaatttt aaggaatacc ttcgtcatgg cgaggaattt
1201 gatttacaat ttatttttca attgtgcaaa attacattaa cagctgatgt tatgacatac
1261 attcataaga tggatgccac tatttttagag gactggcatt ttggccttac cccaccaccg
1321 tctgcatctt tggaggacac atacagattt gtcacttcta ctgctataac ttgtcaaaaa
1381 aacacaccac ctaaaggaaa ggaagatcct ttaaaggact atatgttttg ggaggtggat
1441 ttaaagaaa agttttctgc agatttagat cagtttcctt taggtaggaa gtttttgta
1501 caggcagggc tacaggctag gcccaacta aaacgcctg catcatcggc cccacgtacc
1561 tccacaaaga agaaaaaggt taaaaggtaa
  
```


LAMPIRAN 13. Hasil Blast Probe HPV 56 yang digunakan dalam metode PRELIB

Range 1: 6628 to 6658

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
61.9 bits(31)	7e-07	31/31(100%)	0/31(0%)	Plus/Plus

```

Query 16      GTACTGCTACAGAACAGTTAAGTAAATATGA 46
          |||
Sbjct 6628    GTACTGCTACAGAACAGTTAAGTAAATATGA 6658
  
```

ORIGIN

```

6301 aaatgtctgc agatgcctat ggtgattcta tgtggtttta cttacgcagg gaacaattat
6361 ttgccagaca ttattttaat agggctggta aagttgggga aacaatacct gcagagttat
6421 atttaaaggg tagcaatggg agagaacccc ctccgagttc tgtatatggt gctacgccta
6481 gtgggtctat gattacgtct gaggcacagt tatttaataa accttattgg ttgcaacgtg
6541 cccaaggcca taataatggc atttgctggg gtaatcaatt atttgttact gtagtagata
6601 ctactagaag tactaacatg actattagta ctgctacaga acagttaagt aaatatgatg
6661 cacgaaaaat taatcagtac cttagacatg tggaggaata tgaattacaa tttgtttttc
6721 aattatgcaa aattactttg tctgcagagg ttatggcata ttacataat atgaatgcta
6781 acctactgga ggactggaat attgggttat ccccgccagt ggccaccagc ctagaagata
6841 aatatagata tgttagaagc acagctataa catgtcaacg ggaacagcca ccaacagaaa
6901 aacaggaccc attagctaaa tataaatttt gggatgttaa cttacaggac agtttttcta
6961 cagacctgga tcaatttcca ctgggtagaa aatttttaat gcaactgggc actagggtcaa
7021 agcctgctgt agctacctct aaaaagcgat ctgctcctac ctccacctct acaccagcaa
7081 aacgtaaaag gcggtagtgt gttgttgtgt gtttgtgtaa ctgtgtttgt gtgttgtata
7141 tatggtatgt ttgtgtatgt gctttatttt ataactttgta tgtgtatggt gtgtttgtgt
7201 aaatgtttgt gtgaaatggt tgtgtgtgta ttcattgtat gtatgactgt atatatgtgt
7261 aatgtttgtg tgtctgtaat aaacatgaat gagtgctttt acgctgtggt gcataaacta
7321 aggtgtgtca ttattgtggc ttttgttttg taagttattg tgtacagtgt actatgtgta
7381 ttgtgcatac atatatatac cataacatac tccattttgt tgtttttccg ccattttgta
7441 catgcaaccg aattcggttg catggcctag tgccattatt taaactaaaa ggaattcggg
7501 tgcattggcct agtgccatta tttaaaccaa aaggcccttt tcagcagaac agttaatcct
7561 ttggcatatt gccgtttcct gtgttttata cttaaattat gtacagtacc gcaccctgta
7621 ttactcacag gtactatgac tgccaactat gcttttatct gcatacttta gtgctgttgg
7681 gcacacattt ttatacatgt gtctgcaact ttgggtgttt ggcttgcaaga atacactatg
7741 taggccaagt atctgtcagt atctgttttg caaacatgta acatacaatt actcattttt
7801 taaaaccggt tacggtcgtg caaaaacagg tttcttttaa ttggt
  
```

LAMPIRAN 14. Hasil Blast Probe HPV 58 yang digunakan dalam metode PRELIB

Range 1: 6669 to 6701

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
65.9 bits(33)	4e-08	33/33(100%)	0/33(0%)	Plus/Plus

```

Query 14      ACATTATGCACTGAAGTAACTAAGGAAGGTACA 46
          |||
Sbjct 6669    ACATTATGCACTGAAGTAACTAAGGAAGGTACA 6701
  
```

ORIGIN

```

6361 aaccttatgg ggatagtttg ttcttttttc ttagacgtga gcagatgttt gttaggcact
6421 tttttaatag ggccggaaaa cttggcgagg ctgtcccgga tgacctttat attaaaggg
6481 ccggtaatac tgcagttatc caaagtagtg ctttttttcc aactcctagt ggctctatgg
6541 ttacctcaga atcacaatta ttaataaagc cttattggct acagcgtgca caaggtcata
6601 acaatggcat ttgctggggc aatcagttat ttgttaccgt agttgatacc actcgtagca
6661 ctaatatgac attatgcact gaagtaacta aggaaggtag atataaaaaat gataatttta
6721 aggaatatgt acgtcatggt gaagaatatg acttacagtt tgtttttcag ctttgcaaaa
6781 ttactactaac tgcagagata atgacatata tacatactat ggattccaat attttgagg
6841 actggcaatt tggtttaaca cctcctcctg ctgccagttt acaggacaca tatagattg
6901 ttacctcca ggctattact tgccaaaaaa cagcaccctc taaagaaaaa gaagatccat
6961 taaataaata tacttttttg gaggttaact taaaggaaaa gttttctgca gatctagatc
7021 agtttccttt gggacgaaag tttttattac aatcaggcct taaagcaaag cccagactaa
7081 aacgttcggc ccctactacc cgtgcacccat ccaccaaacy caaaaagggt aaaaaataat
7141 tgttggtgga cttactactat tttattatac atgtttgttt gttttatgta tgtggtgtct
7201 gtttgtttat gtttggtgat atgttgtagt tgttatgtgt catgtttgtg tacatgttct
7261 atgtctttgt cagtttcctg tttctgtata tatgtaataa actattgtgt gtattgtaaa
7321 ctatttgat tgtttggtg tatctatgag taagggtgctg tccctaaatt gccctaccct
7381 gccctgccta ttatgcatac ctatgtaata gtatttgat gatatgtatt ttatagtttt
7441 taacagtact gcctccattt tactttacct ccattttgtg catgtaaccg atttcggtg
7501 ctggcacaaa cgtgtttttt ttaaactaca atttaacaa tacagttaat ctttccctt
7561 cctgcactgc ttttgcctat acttgcatac gtgactcata tatacatgca gtgcagttgc
7621 aaaatgttta attatactca tagtttaaac atgcttatag gcacatattt taactactt
7681 tcaatgctta agtgcagttt tggcttgcac aatggtttgt tatgccaaac tatgtcttgt
7741 aaaagtgact cactaacatt tattgccagg tgtggactaa ccgttttggg tcacattggt
7801 catgtttcaa cattttatat aata
  
```

LAMPIRAN 15. Hasil Blast Probe HPV 59 yang digunakan dalam metode PRELIB

Range 1: 6644 to 6675

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
63.9 bits(32)	2e-07	32/32(100%)	0/32(0%)	Plus/Plus

```

Query 16      TCTACTACTGCTTCTATTTCCTAATGTATACAC 47
                |||
Sbjct 6644    TCTACTACTGCTTCTATTTCCTAATGTATACAC 6675
  
```

ORIGIN

```

6301 tgattattta caaatgtcag cagatgctta tggagacagt atgttttttt gtttaaggcg
6361 agaacagatt tttgccagac atttttggaa tagatctggt actatgggtg atcaacttcc
6421 tgaatcacta tatattaaag gtactgacat acgtgccacc ccaggcagtt atttatattc
6481 cccttcccca agtgggtctg tggttacttc tgattcacia ttatttaata aaccatattg
6541 gctgcacaag gctcaggggt taaacaatgg tatatgttgg cacaatcaat tgtttttaac
6601 agttgtagat actactcgca gcaccaatct ttctgtgtgt gcttctacta ctgcttctat
6661 tcctaatagta tacacaccta ccagttttta agaatatgcc agacatgtgg aggaatttga
6721 tttgcagttt atatttcaac tgtgtaaaat aacattaact acagaggtaa tgtcatacat
6781 tcataatatg aataccacta ttttggagga ttggaatttt ggtgttacac cacctcctac
6841 tgctagttta gttgacacat accgttttgt tcaatctgct gctgtaactt gtcaaaagga
6901 caccgcaccg ccagttaaac aggaccctta tgacaaaacta aagttttgga ctgtagatct
6961 taaggaaagg ttttctgcag atcttgatca gtttcctttg ggacgtaaat ttttattgca
7021 attaggagct agacctaagc cactataggg cccacgcaa cgtgcagcgc ccgcccctac
7081 ctctacccca tcaccaaacc gtgtaagcgc tcgcaagtct tccagaaat agtgttgttt
7141 gttatgtgtt tgtatgtgtg catgttgtat gttttgtatt gtttgcctgt ttgtatgttg
7201 tgtatatgta catgtttgtt tgtctgctgt atgtgtgtat ttgttttgt acataataaa
7261 gtatgcatga cagtttcatg tgtggttgca ccaatgagt aaggtagtct ccctttattg
7321 tttctttgtc cttattacac attattacac attgccctac ttacataggt gtgtttgttc
7381 cttcattttg tctgaatat ccagttttgc atttgcacat tatatggcgt ccattttatc
7441 ctttaaatac tccattttgc tgtgcaaccg ttttcggtta ccttggttta accttacctt
7501 tttgaacaat taatctgttt aaacatcagc aaaacagtta atccccatct tgtttcctcc
7561 tacacgccta gactactaac acaacttaca aacgccaat agttagtcac catcctgtcc
7621 aggtgcactc taacaatacc ttgcataact ttggtggcgc cctgttaat aaaacagctt
7681 ttaggcacat attttactg tttttactac ttaattgca taattggctt gcaaaactac
7741 tgtgcaatcc aagaatgtgt ctataattta ttgtacaaaa acatgactaa ggtttttgtc
7801 attgttaagc aaccgaaaaa ggctcgggcaa gtacatgcac actttctact tattactttt
7861 tacaattata gtaataaaaa aggtgtgtaac cgaaaaacg
  
```

LAMPIRAN 16. Hasil Blast Probe HPV 66 yang digunakan dalam metode PRELIB

Range 1: 6670 to 6702

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
65.9 bits(33)	4e-08	33/33(100%)	0/33(0%)	Plus/Plus

```

Query 14 ACTATTAATGCAGCTAAAAGCACATTAACTAAA 46
          |||
Sbjct 6670 ACTATTAATGCAGCTAAAAGCACATTAACTAAA 6702
  
```

ORIGIN

```

6241 atggtgagaca ccgggtttgg tgcaatggac ttttaagctat tacaggaatc aaaggctgag
6301 gtgccattgg acattgtaca atctacatgt aaatatcctg attatttaaa aatgtctgca
6361 gatgcctatg gggattctat gtgggttttac ttacgcaggg aacaattggt tgccagacat
6421 tactttaata gggcaggtaa tgttggggaa gccattccta cagatttgta ttggaagggt
6481 ggcaatggca gggaccctcc tcccagttct gtatatgttg ctactcctag tgggtccatg
6541 attacctctg aggccaatt atttaataaa cttatttggg tgcaacgtgc acagggccat
6601 aataatggca tatgctgggg taatcaggta tttgttactg ttgtggatac taccagaagc
6661 accaacatga ctattaatgc agctaaaagc acattaacta aaatgatgac ccgtgaaatc
6721 aatcaatacc ttgccatgt ggaggaatat gaactacagt ttgtgtttca actttgtaaa
6781 ataaccttaa ctgcagaagt tatggcatat ttgcataata tgaataatac tttattagac
6841 gattggaata ttggcttatc cccaccagtt gcaactagct tagaggataa atataggtat
6901 attaaaagca cagctattac atgtcagagg gaacagcccc ctgcagaaaa gcaggatccc
6961 ctggctaaat ataagttttg ggaagttaat ttacaggaca gcttttctgc agacctggat
7021 cagtttccct tgggtagaaa atttttaatg caactaggcc ctagaccccc tagaccaag
7081 gctagtgtat ctgcctctaa aaggcgggcg gctcctacct cttcctcttc ttcaccagct
7141 aaacgtaaaa aacgatagtt gtgtgtttgt tgttgtatgt attgtatggt tgtgcttgta
7201 ctgtatgttt ttgtgtatgt ttatgtatgt tataattgtg tatgtgctat gtgtatgtat
7261 gactgtatgt atgtgtaatg ttttgtgtgt atgtaataaa catgcatggt tacttttacg
7321 cgtgggtgca taaactaagg tgcggtagta tccttgggca gtgtgtgtca ggtaggtgg
7381 tgttccttac tgtttaatgt tatattaaat aggttgtttg tatgcactat agtaacacac
7441 caaactccat tttagtgtctg tacgccatgt tatgcatgca accgaattcg gttgcctagc
7501 cttttgtcct tatttaaacc caaaacgact tttcagcaaa acagttaatc ctttggcata
7561 ttgccgtttc ctgtttgtatg attcaggtat gtacactgcc ttaccctgta ttactcacct
7621 gtatttctgt gccaaactatg cttttatctg catactttgg cgctgttggg catatgtttt
7681 tatgcaggtg tttgcaatat attttgttgg cgtgtagccc ttattgtata agccaagtat
7741 ctgtcttgca aatatgtaac catatactta ctcattttac aaaaccgttt acggtcgtgc
7801 taaaacaggt ttcttttaat tgmtt
  
```

LAMPIRAN 17. Hasil Blast Probe HPV 68 yang digunakan dalam metode PRELIB

Range 1: 6540 to 6570

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
61.9 bits(31)	7e-07	31/31(100%)	0/31(0%)	Plus/Plus

```

Query 16      TCTACTACTACTGAATCAGCTGTACCAAATA 46
              |||
Sbjct 6540    TCTACTACTACTGAATCAGCTGTACCAAATA 6570
  
```

ORIGIN

```

6121 atgggtgctat ggacttttagt acattacaag aaacaaaaag cgagggtgcct ttagatataat
6181 gtcaatcagt ctgcaaatat cctgactatt tacaaatgtc tgcagatgta tatggagaca
6241 gtatgttctt ttgtttacgt agggaaacagt tatttgctag gcatttttgg aatagagggg
6301 gcatggtagg ggacactata cctactgaat tgtatattaa gggcactgac atacgtgaca
6361 gtccctggtag ttatgtatata gccccctcgc ctagtggggtc tatggtatcc tcagactccc
6421 agttatttaa caagccctat tggctgcaca aggcacaggg acacaacaat ggtatttgggt
6481 ggcataatca attatttctt actggttggtg ataccactcg cagtaccaat tttactttgtt
6541 ctactactac tgaatcagct gtaccaata tttatgatcc taataaattt aaggaatata
6601 ttaggcatgt tgaggaatat gatttgcaat ttatatttca gttgtgtact ataacattgt
6661 cactgatgt aatgtcctat atacatacta tgaatcctgc tattttggat gattggaatt
6721 ttgggtggtg ccctccacca tctgctagtc ttgtagatac ataccgctat ctgcaatcag
6781 cagcaattac atgtcaaaaa gacgcccctg cacctactaa aaaggatcca tatgatggct
6841 taaacttttg gaatgtaaat ttaaaggaaa agtttagttc tgaactggac cagtttctt
6901 taggacgcaa atttctttta caggcaggcg tccgcccagc acccactata ggcccccgta
6961 aacgccccgc cacagcaact actgcatcta cctctaagca caaacgtaaa cgtgtgtcaa
7021 agtaattggt gtatgttttg ttttgtatgt tggttgtatg tgtggttgta tatgtgtcat
7081 gttgtttgtg gtatgttttg catgtatgtg tatatgtata tgtgtatggt tgcaggtagt
7141 tttgtataat ctgtttttgt taataaagta tgtatgtcag ttacttttgt ggttgcacc
7201 tgtgactaac atatgtcctt gttttacata tcataggact gcaacatttc ctacataatt
7261 tgtagcccta ccctaagggtg tgttacagta catgtaatat atatatagtt ctatattata
7321 ccaagggggc attttgtaag gccattttgt gtgcaaccgt tttcggtcgg tgggtgctatt
7381 tccttctata cagtattaaa aactatgtgt ttcagcaaaa acatgtttca ccttggttta
7441 cccacatagt tggcaccggt aacagtatgt actggcgcgc cttaccctag catcatcctg
7501 tccagggtgca gtgcaacaat agtttggcag cctatatatc tccacccttg taataaaact
7561 gcttttaggc ataggttttt aactgttttt acttgccctaa tagcatagtt ggctgtata
7621 actacttttg cattcaagaa tgtgtcttgt agtgttaagt atacagtgtc taataccaca
7681 tccataaatt tgtgcaatcg aaataggttg ggcacacata ccaatacttt tacttataac
7741 attttacaat cattttatag tataaaggga gtgaccggaa acggtcatga ccgaaaacgg
7801 tgtatataaa gctgaacaca gcagttgtct atacca
  
```

LAMPIRAN 18. Hasil Blast Probe β - globin gen yang digunakan dalam metode PRELIB

Range 1: 307 to 335

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
58.0 bits(29)	9e-06	29/29(100%)	0/29(0%)	Plus/Plus

```

Query 16  CACAACCTGTGTTCACTAGCAACCTCAAAC 44
          |||
Sbjct 307  CACAACCTGTGTTCACTAGCAACCTCAAAC 335
  
```

ORIGIN

```

1  ttaccaagct  gtgattccaa  atattacgta  aatacacttg  caaaggagga  tgtttttagt
61  agcaatthgt  actgatggta  tggggccaag  agatataatct  tagaggagg  gctgagggtt
121  tgaagtccaa  ctccaaagcc  agtgccagaa  gagccaagga  caggtacggc  tgatcatcact
181  tagacctcac  cctgtgggagc  cacaccctag  gggtggccaa  tctactccca  ggagcagggg
241  gggcaggagc  cagggctggg  cataaaagtc  agggcagagc  catctattgc  ttacatttgc
301  ttctgacaca actgtgttca ctagcaacct caaacagaca  ccatggtgca  tctgactcct
361  gaggagaagt  ctgccgttac  tgccctgtgg  ggcaagggtga  acgtggatga  agttgggtgg
421  gaggccctgg  gcaggttgct  atcaagggtta  caagacaggt  ttaaggagac  caatagaaac
481  tgggcatgtg  gagacagaga  agactcttgg  gtttctgata  ggcactgact  ctctctgcct
541  attggtctat  tttcccacc  ttaggctgct  ggtggtctac  ccttgacc  agaggttctt
601  tgagtccttt  ggggatctgt  cactcctga  tgctgttatg  ggcaacccta  aggtgaaggc
661  tcatggcaag  aaagtgctcg  gtgcctttag  tgatggcctg  gtcacactgg  acaacctcaa
721  gggcaccttt  gccacactga  gtgagctgca  ctgtgacaag  ctgcacgtgg  atcctgagaa
781  cttcaggggtg  agtctatggg  acgcttgatg  ttttctttcc  cttcttttc  tatggttaag
841  ttcattgtcat  aggaagggga  taagtaacag  ggtacagttt  agaattgggaa  acagacgaat
901  gattgcatca  gtgtggaagt  ctcaggatcg  ttttagtttc  ttttatttgc  tgttcataac
961  aattgttttc  ttttgtttaa  ttcttgcttt  cttttttttt  cttctccgca  attttacta
1021  ttataacttaa  tgccttaaca  ttgtgtataa  caaaggaaa  tatctctgag  atacattaag
  
```


LAMPIRAN 20. Hasil Olah Data

DIAGNOSA

	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Athrofic Vaginitis	4	2.8	2.8	2.8
Ca. Endometrium	3	2.1	2.1	4.9
Ca. Ovarium	5	3.5	3.5	8.4
Ca. Serviks	30	21.0	21.0	29.4
Ca. Vagina	1	.7	.7	30.1
Ca. Vulva	1	.7	.7	30.8
Candidiasis	2	1.4	1.4	32.2
Cervitis Kronik	1	.7	.7	32.9
Cin I	1	.7	.7	33.6
CIN I	1	.7	.7	34.3
Cin III	1	.7	.7	35.0
Coccus	3	2.1	2.1	37.1
Flour Albus	1	.7	.7	37.8
Fluor Albus	7	4.9	4.9	42.7
Infertil Primer	1	.7	.7	43.4
Kista Ovarium	5	3.5	3.5	46.9
Kista Ovarium + mioma uteri	1	.7	.7	47.6
Mioma Uteri	5	3.5	3.5	51.0
Valid Neoplasma Ovarium	2	1.4	1.4	52.4
Neoplasma Ovarium susp. Ganas	1	.7	.7	53.1
Normal	9	6.3	6.3	59.4
perdarahan pasca menopause	1	.7	.7	60.1
Perdarahan uterus abnormal	1	.7	.7	60.8
PID	6	4.2	4.2	65.0
PID + Fluor albus	2	1.4	1.4	66.4
Radang Menahun	34	23.8	23.8	90.2
Radang Menahun + Kondiloma	1	.7	.7	90.9
Servitis	2	1.4	1.4	92.3
Tropohlas ganas	1	.7	.7	93.0
Tumor Adnexa	2	1.4	1.4	94.4
Tumor adnexa (HIV)	1	.7	.7	95.1
Tumor Adnexa susp. Ganas	1	.7	.7	95.8
Tumor Serviks Kecil	1	.7	.7	96.5
Tumor Uterus	5	3.5	3.5	100.0
Total	143	100.0	100.0	

Jumlah Paritas

	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
0	26	18.2	18.2	18.2
1	15	10.5	10.5	28.7
2	38	26.6	26.6	55.2
3	38	26.6	26.6	81.8
4	16	11.2	11.2	93.0
5	5	3.5	3.5	96.5
6	5	3.5	3.5	100.0
Total	143	100.0	100.0	

Statistics

	KATEGORI UMUR	KAT_HP	KAT_PKERJ AAN	KANKER GINEKOLOGI
N	Valid	143	143	143
	Missing	0	0	0

KATEGORI UMUR

	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
<35 TAHUN	41	28.7	28.7	28.7
>= 35 TAHUN	102	71.3	71.3	100.0
Total	143	100.0	100.0	

KAT_HP

	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
POSITIF	38	26.6	26.6	26.6
NEGATIF	105	73.4	73.4	100.0
Total	143	100.0	100.0	

KAT_Pekerjaan

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	IRT	89	62.2	62.2	62.2
	PNS	33	23.1	23.1	85.3
	SWASTAWIRASWASTA	21	14.7	14.7	100.0
	Total	143	100.0	100.0	

Kanker Ginekologi

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	KANKER GINEKOLOGI	46	32.2	32.2	32.2
	BUKAN KANKER GINEKOLOGI	97	67.8	67.8	100.0
	Total	143	100.0	100.0	

Paritas

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	>3 ANAK	64	44.8	44.8	44.8
	0-2 ANAK	79	55.2	55.2	100.0
	Total	143	100.0	100.0	

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
KATEGORI UMUR * KANKER GINEKOLOGI	143	100.0%	0	0.0%	143	100.0%

KATEGORI UMUR * KANKER GINEKOLOGI Crosstabulation

			KANKER GINEKOLOGI		Total
			KANKER GINEKOLOGI	BUKAN KANKER GINEKOLOGI	
KATEGORI UMUR	<35 TAHUN	Count % within KATEGORI UMUR	4 9.8%	37 90.2%	41 100.0%
	>= 35 TAHUN	Count % within KATEGORI UMUR	42 41.2%	60 58.8%	102 100.0%
Total		Count % within KATEGORI UMUR	46 32.2%	97 67.8%	143 100.0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	13.232 ^a	1	.000		
Continuity Correction ^b	11.831	1	.001		
Likelihood Ratio	15.221	1	.000		
Fisher's Exact Test				.000	.000
Linear-by-Linear Association	13.139	1	.000		
N of Valid Cases	143				

a. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 13.19.

b. Computed only for a 2x2 table

PARITAS * KANKER GINEKOLOGI Crosstabulation

		KANKER GINEKOLOGI		Total	
		KANKER GINEKOLOGI	BUKAN KANKER GINEKOLOGI		
PARITAS	>3 ANAK	Count	32	32	64
		% within PARITAS	50.0%	50.0%	100.0%
PARITAS	0-2 ANAK	Count	14	65	79
		% within PARITAS	17.7%	82.3%	100.0%
Total		Count	46	97	143
		% within PARITAS	32.2%	67.8%	100.0%

Chi-Square Tests

	Value	Df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	16.883 ^a	1	.000		
Continuity Correction ^b	15.436	1	.000		
Likelihood Ratio	17.113	1	.000		
Fisher's Exact Test				.000	.000
Linear-by-Linear Association	16.765	1	.000		
N of Valid Cases	143				

a. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 20.59.

b. Computed only for a 2x2 table

KAT_Pekerjaan * Kanker Ginekologi Crosstabulation

			KANKER GINEKOLOGI		Total
			KANKER GINEKOLOGI	BUKAN KANKER GINEKOLOGI	
KAT_Pekerjaan	IRT	Count	36	53	89
		% within KAT_Pekerjaan	40.4%	59.6%	100.0%
		Count	3	30	33
	PNS	% within KAT_Pekerjaan	9.1%	90.9%	100.0%
		Count	7	14	21
		% within KAT_Pekerjaan	33.3%	66.7%	100.0%
	SWASTAWIRASWASTA	Count	46	97	143
		% within KAT_Pekerjaan	32.2%	67.8%	100.0%
		Total			

Chi-Square Tests

	Value	Df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	10.865 ^a	2	.004
Likelihood Ratio	12.692	2	.002
Linear-by-Linear Association	2.975	1	.085
N of Valid Cases	143		

a. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 6.76.

KAT_HP V * KANKER GINEKOLOGI Crosstabulation

		KANKER GINEKOLOGI		Total	
		KANKER GINEKOLOGI	BUKAN KANKER GINEKOLOGI		
KAT_HP V	POSITIF	Count	31	7	38
		% within KAT_HP V	81.6%	18.4%	100.0%
	NEGATIF	Count	15	90	105
		% within KAT_HP V	14.3%	85.7%	100.0%
Total		Count	46	97	143
		% within KAT_HP V	32.2%	67.8%	100.0%

Chi-Square Tests

	Value	Df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	57.906 ^a	1	.000		
Continuity Correction ^b	54.863	1	.000		
Likelihood Ratio	57.214	1	.000		
Fisher's Exact Test				.000	.000
Linear-by-Linear Association	57.501	1	.000		
N of Valid Cases	143				

a. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 12.22.

b. Computed only for a 2x2 table

KATEGORI UMUR * KAT_HP V Crosstabulation

			KAT_HP V		Total
			POSITIF	NEGATIF	
KATEGORI UMUR	<35 TAHUN	Count	4	37	41
		% within KATEGORI UMUR	9.8%	90.2%	100.0%
	>= 35 TAHUN	Count	34	68	102
		% within KATEGORI UMUR	33.3%	66.7%	100.0%
Total	Count	38	105	143	
	% within KATEGORI UMUR	26.6%	73.4%	100.0%	

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2- sided)	Exact Sig. (1- sided)
Pearson Chi-Square	8.332 ^a	1	.004		
Continuity Correction ^b	7.167	1	.007		
Likelihood Ratio	9.522	1	.002		
Fisher's Exact Test				.003	.002
Linear-by-Linear Association	8.273	1	.004		
N of Valid Cases	143				

a. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 10.90.

b. Computed only for a 2x2 table