



Aplikasi *Hybrid Capture II System* Dalam Deteksi Dini Kanker Serviks

Sinta Sasika Novel¹, Ratu Safitri², Sukma Nuswantara³

¹Mahasiswa Biologi, FMIPA Universitas Padjadjaran. ²Dosen Mikrobiologi, FMIPA Universitas Padjadjaran.

³Biotech Coordinator, Sandia Biotech Diagnosis Centre, Santosa Bandung International Hospital.

ABSTRAK

Penelitian mengenai Aplikasi *Hybrid Capture II System* dalam deteksi dini kanker serviks dimaksudkan untuk mempelajari metoda hibridisasi DNA dalam identifikasi keterdapatannya HPV yang menyebabkan kanker serviks dengan menggunakan perangkat diagnostik *Hybrid Capture® 2 Digene*. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kemampuan sistem *Hybrid Capture-II* (HC-II) untuk mendeteksi keberadaan HPV dalam sampel. Kegunaan penelitian ini adalah untuk menguji tingkat akurasi teknik HC-II sebagai salah satu cara dalam deteksi dini kanker serviks. Hasil yang didapatkan dari 12 pasien adalah 9 pasien negatif terinfeksi HPV tergolong *high risk* dengan nilai RLU (*Relative Light Unit*): pasien (kode 08070088) 0,21; pasien (kode 08070089) 0,32; pasien (kode 08070090) 0,23; pasien (kode 08070091) 0,27; pasien (kode 08070092) 0,26; pasien (kode 08040043) 0,97; pasien (kode 08040045) 0,17; pasien (kode 08040046) 0,18; pasien (kode 08040046) 0,18; pasien (kode 08040050) 0,12; dan 3 pasien positif terinfeksi HPV tergolong *high risk* dengan nilai RLU: pasien (kode 08040044) 1293,03; pasien (kode 08040047) 44,44; pasien (kode 08040048) 1,85.

Kata kunci : Kanker serviks, HPV, *Hybrid Capture-II System*, RLU.

PENDAHULUAN

HPV (*Human Papilloma Virus*) termasuk ke dalam familia *Papovaviridae*, memiliki diameter 555 nm dengan genom yang berukuran 8kbp, struktur kapsid Icosahedral tak beramplop. HPV merupakan virus DNA yang memiliki hampir 100 tipe. Berdasarkan karsinogenitasnya, HPV terbagi ke dalam dua kelompok yaitu *high-risk* HPV (hr-HPV) dan *low-risk* HPV (lr-HPV)⁽¹²⁾. Infeksi lr-HPV menyebabkan kutil pada kulit dan kulit kelamin, sedangkan infeksi hr-HPV menyebabkan kanker serviks atau leher rahim.

Kanker serviks merupakan jenis kanker terbanyak kedua pada wanita setelah kanker payudara⁽¹⁴⁾. Terdapat lebih dari 440.000.000 individu yang terinfeksi HPV⁽¹⁹⁾. Pada tahun 2005 lebih dari 250.000 kematian disebabkan oleh kanker serviks⁽¹⁴⁾. Hampir 80% kanker serviks terjadi di negara berkembang termasuk Indonesia.

Di Indonesia sendiri, kanker serviks menjadi ancaman tersendiri bagi para wanita⁽¹⁾. Setiap hari ditemukan 41 kasus baru dan 20 kematian akibat kanker serviks. Diperkirakan 40.000 kasus baru kanker serviks ditemukan setiap tahunnya⁽¹¹⁾. Kanker serviks itu sendiri adalah jenis kanker yang telah diketahui protein karsinogeniknya yaitu protein E6 dan E7⁽¹⁾.

Protein E6 dan E7 merupakan vektor pembawa karsinogen dari HPV yang dapat menyebabkan pertumbuhan sel tidak normal yang disebut displasia, displasia inilah yang berkembang menjadi kanker⁽⁹⁾. Kanker serviks 90% berasal dari sel skuamosa yang melapisi serviks dan 10% berasal dari sel kelenjar penghasil lendir pada saluran servikal yang menuju uterus⁽⁷⁾. Sel yang terinfeksi HPV akan menyebabkan metabolisme sel menjadi tidak normal sehingga mengakibatkan perubahan sel normal menjadi sel yang abnormal. Para dokter menyebut sel abnormal tersebut sebagai pra-kanker sedangkan perubahan awal pra-kanker pada permukaan sel disebut displasia atau lesi intra *epithelial squamosa*⁽⁹⁾. Pencegahan kanker serviks yaitu dengan pencegahan primer dan sekunder. Pencegahan Primer yaitu dengan mencegah terjadinya infeksi HPV melalui vaksinasi. Pencegahan sekunder melalui deteksi dini dengan metode *Pap Smear*, kolposkopi, pendeteksian DNA virus dengan teknik PCR dan *Hybrid Capture-II*.

Pap Smear merupakan teknik yang paling mudah dilakukan dengan melihat perubahan sel-sel epitelium serviks. Infeksi HPV dapat merusak atau mengubah susunan sel-sel epitelium serviks; perubahan inilah yang dideteksi menggunakan *Pap smear*. Teknik *Pap smear* kurang efektif karena bisa meragukan.



Pertama sering ditemukan sel epitelium abnormal sehingga diduga sebagai kanker serviks, namun ternyata sel tersebut bukan terinfeksi HPV melainkan oleh mikroorganisme lain misalnya bakteri. Kedua pada saat pengamatan tidak ditemukan kelainan sel epitelium tapi setelah diselediki lebih lanjut pasien tersebut terinfeksi HPV⁽²⁰⁾.

Oleh karena itu para peneliti mengembangkan teknik lain sebagai pelengkap *Pap smear* untuk mengetahui tingkat akurasi sel-sel epitelium tersebut; apakah benar-benar terinfeksi HPV atau hanya terinfeksi bakteri. Teknik tersebut adalah teknik deteksi DNA virus dengan menggunakan perangkat HC-II. HC-II merupakan teknologi terbaru di bidang biologi molekuler sehingga dapat melengkapi tes sitologi *Pap smear* dan dapat membantu diagnosis dokter.

Prinsip kerja HC-II adalah melakukan hibridisasi DNA, DNA virus akan terikat oleh *probe* sehingga terbentuk ikatan DNA virus dengan *probe* yang merupakan RNA. Ikatan yang terbentuk disebut hibrid DNA : RNA. Hibrid DNA : RNA akan terikat oleh antibodi spesifik yang ada di dalam sumur *microplate*. Ikatan antibodi dengan hibrid DNA : RNA akan bereaksi dengan *alkaline phosphatase*. Reaksi ini dideteksi oleh *chemiluminescent* yang akan menghasilkan sinyal amplifikasi dalam bentuk emisi cahaya. Emisi cahaya diukur oleh luminometer menghasilkan nilai RLU (*Relative Light Unit*). Nilai RLU inilah yang akan menentukan apakah pasien tersebut terinfeksi atau tidak oleh HPV⁽⁸⁾.

Tes DNA HPV menggunakan perangkat HC-II memiliki keakuratan yang lebih tinggi dibandingkan teknik lainnya⁽³⁾, selain karena dilengkapi oleh teknik komputerisasi, juga karena HC-II memiliki nilai sensitivitas 98%, nilai spesifisitas 98%, dan nilai prediksi negatif 99% sehingga kemungkinan kesalahan diagnosis negatif palsu sangat kecil.

MAKSUD, TUJUAN, DAN KEGUNAAN PENELITIAN

Maksud penelitian ini adalah mempelajari metoda hibridisasi DNA untuk identifikasi keterdapatannya hr-HPV yang menyebabkan kanker serviks dengan menggunakan perangkat diagnostik *Hybrid Capture® 2 HPV DNA TEST™*. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kemampuan sistem HC-II untuk mendeteksi adanya HPV dalam sampel. Kegunaan penelitian ini adalah untuk menguji tingkat akurasi teknik HC-II sebagai salah satu cara deteksi dini kanker serviks.

BAHAN DAN CARA KERJA

Bahan : koleksi sampel, set bahan kimia *Hybrid Capture II System* terdiri atas: 0,35 mL larutan indikator pewarna, 50 mL reagen denaturasi, 5 mL larutan pengencer *probe*, 200 mL *probe* HPV *high risk*, 2 mL kontrol (-), 1 mL kalibrator HPV *High risk*, 1 mL kontrol kualitas HPV *high risk*, 12 mL reagen pendeteksi 1, 12 mL reagen pendeteksi 2, dan 100 mL *konsentrat buffer* pencuci. Bahan pendukung lain antara lain: *parafilm*, *plate sealer*, *reservoir plastic*, kertas tisu.

Prosedur kerja: pengujian sampel menggunakan perangkat diagnostik HC-II. Penelitian dimulai dengan pengambilan sampel, persiapan reagen, persiapan perangkat lunak, denaturasi DNA, persiapan kontrol dan kalibrator HC-II, persiapan larutan *probe*, hibridisasi, penangkapan hibrid, pendeteksian hibrid DNA-RNA menggunakan amplifikasi sinyal (reagen pendeteksi satu), pencucian, pendeteksian amplifikasi sinyal menggunakan substrat *chemiluminescent*.

HASIL DAN DISKUSI

Nilai RLU pada Pasien :

Pasien	Kode	RLU	Hasil
Pasien 1	08070088	0,21	Negatif
Pasien 2	08070089	0,32	Negatif
Pasien 3	08070090	0,23	Negatif
Pasien 4	08070091	0,27	Negatif
Pasien 5	08070092	0,26	Negatif
Pasien 6	08040043	0,97	Negatif
Pasien 7	08040044	1293,03	High risk
Pasien 8	08040045	0,17	Negatif
Pasien 9	08040046	0,18	Negatif
Pasien 10	08040047	44,44	High risk
Pasien 11	08040048	1,85	High risk
Pasien 12	08040050	0,12	Negatif

HC-II dirancang untuk mendeteksi 18 tipe HPV (hr-HPV dan lr-HPV)⁽¹⁰⁾ yang telah diakui dunia serta disahkan oleh FDA (*Food and Drug Administration*) Amerika Serikat⁽¹³⁾. Tes ini mempunyai satu keuntungan tambahan yaitu memperkirakan jumlah kuantitatif virus^(4;17).

HC-II memiliki keakuratan yang tinggi dalam mendeteksi infeksi HPV^(15;2) karena sistem ini mampu mendeteksi keberadaan DNA HPV dalam jumlah yang sangat kecil. Keakuratan uji atau tes berdasarkan pada nilai sensitivitas dan spesifisitas⁽¹⁸⁾. Nilai sensitivitas suatu uji berarti yang menjamin bahwa nilai positif yang dihasilkan adalah benar positif dengan peluang nilai negatif palsu yang kecil sedangkan nilai spesifisitas suatu uji adalah yang menjamin bahwa nilai negatif yang dihasilkan adalah benar negatif dengan peluang nilai positif palsu yang kecil⁽³⁾. Nilai sensitivitas HC-II adalah sebesar 98% sedangkan pada *Pap smear* sekitar 51-76% sedangkan nilai spesifisitas HC-II 98% dan *Pap smear* 97% sehingga kemungkinan terjadinya kesalahan diagnosis negatif palsu dari pemeriksaan ini sangat kecil.

Prinsip kerja HC-II hibridisasi antibodi adalah menggunakan pendeteksian *chemiluminescent*⁽¹⁶⁾. Hibridisasi antara DNA virus dengan *probe* RNA menghasilkan *DNA-RNA hybrid* yang ditangkap oleh antibodi di dalam sumur *microplate* yang kemudian akan bereaksi dengan antibodi ke dua yang dikonjugasikan dengan *alkaline phosphate*. Antibodi ke dua ini bertindak sebagai sinyal amplifikasi; makin banyak hibrid DNA-RNA yang tertangkap pada dinding *capture plate*, makin banyak pula antibodi kedua yang dapat mengenali hibrid DNA-RNA.



Kuantitas antibodi yang terikat pada hibrid DNA-RNA diukur dengan menambahkan zat *chemiluminescent* atau *1,2-dioxetan*. Intensitas cahaya yang dipancarkan menandakan ada atau tidaknya DNA target dalam sampel. Cahaya berasal dari *dioxetan* yang memiliki waktu paruh singkat dan memiliki reaksi oksidasi intermediet yang tidak stabil. *Alkaline phosphatase* mendefosforilasi substrat adamantil-1,2-dioxetan fosfat secara hidrolitik membentuk anion yang metastabil. Sifat metastabil inilah yang membuat anion akan terfragmentasi membentuk adamantanone dan anion metil-m-oksibenzoat. Anion metil-m-oksibenzoat yang tereksitasi akan mengemisikan sinar dengan panjang gelombang 447 nm.

Cahaya yang dihasilkan dari reaksi pemutusan substrat *chemiluminescent* oleh *alkaline phosphatase* kemudian dideteksi oleh luminometer dan diinterpretasikan dalam satuan RLU oleh luminometer yang sebanding dengan 1 pg/mL kontrol positif DNA HPV tipe 16 dan 5000 genom HPV. Penentuan nilai positif uji DNA HPV didasarkan pada perbandingan sampel dengan rata-rata triplikasi RLU kontrol positif (RLU/PC). Jika perbandingan RLU/PC (*relative light unit*/positif kontrol) melebihi nilai ambang positif maka spesimen dinyatakan positif terhadap tes DNA HPV.

Nilai positif palsu artinya tes DNA HPV positif tetapi setelah melalui pengujian lain seperti kolposkopi, IVA, dan *Pap smear* ternyata tidak ditemukan kelainan yang mengacu pada kanker serviks. Penentuan konsentrasi ambang DNA HPV yang akan berpeluang terbentuknya kanker serviks adalah sangat penting. *Digene* menetapkan nilai ambang positif sebesar 1.0 RLU/PC⁽²⁾.

Infeksi HPV ke dalam luka berlangsung antara 8 sampai 12 minggu⁽⁶⁾. Infeksi HPV dipengaruhi faktor usia dan kondisi sistem imunitas pasien, kedua faktor ini juga mempengaruhi nilai positif palsu. Nilai positif palsu menurun sampai tiga kali lipat untuk pasien yang berusia di atas 30 tahun jika dibandingkan dengan pasien yang berusia di bawah 30 tahun⁽⁵⁾. Wanita berusia di bawah 30 tahun cenderung memiliki sistem imunitas yang cukup untuk mengurangi infeksi HPV, sedangkan wanita berusia di atas 30 tahun cenderung mengalami infeksi HPV yang persisten atau menetap⁽²²⁾.

Infeksi HPV yang bersifat laten dapat berkembang menjadi displasia (kelainan) pada sel epitel serviks⁽²¹⁾. Peluang terjadinya displasia sel epitel serviks lebih besar apabila penderita mengalami immunosupresi, misalnya orang yang terinfeksi HIV akan lebih mudah terinfeksi HPV karena infeksi HIV dan HPV sama-sama ditularkan melalui aktivitas seksual. Penurunan sistem imunitas akibat infeksi HIV akan memudahkan infeksi virus HPV⁽⁶⁾.

Selain itu faktor lain misalnya kebiasaan merokok, penggunaan kontrasepsi oral, dan terinfeksi penyakit menular seksual lainnya akan meningkatkan peluang terjadinya kanker serviks yang bersifat invasif⁽²²⁾.

SIMPULAN

1. Teknik HC-II dapat mendeteksi HPV *high risk* dan *low risk*.
2. Hasil HC-II jika melebihi nilai ambang positif maka spesimen dinyatakan positif terinfeksi HPV.
3. Teknik HC-II dapat melengkapi tes sitologi *Pap smear* dan dapat membantu diagnosis dokter.

DAFTAR PUSTAKA

1. Andrijono. Kanker Serviks. Jakarta: Divisi Onkologi Departemen Obstetri-Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 2007; 1-81
2. Castle PE, Lorincz AT, Lohnas IM, dkk. Results of human papillomavirus DNA testing with the hybrid capture II assay are reproducible. *J Clin Microbiol.* 2002; 40:1088-90.
3. Clavel C, Masure M, Putaud I, dkk. Hybrid capture II, a new sensitive test for human papillomavirus detection. Comparison with hybrid capture I and PCR results in cervical lesions. *J. Clin. Pathol.* 1998; 5: 737-40.
4. Cox JT, Lorincz AT, Schiffman MH. Human Papillomavirus Testing by Hybrid Capture Appears to be Useful in Triaging Women with a Cytologic Diagnosis of ASCUS. *Am J Obstet Gynecol.* 1995; 172: 946-54.
5. Cuzick J. Human Papillomavirus Infection of the Prostate. *Cancer Surveys.* 1995; 23: 91-5.
6. Doorbar J. Molecular Biology of Human Papillomavirus Infection and Cervical Cancer. *Clin. Sci.* 2006; 110: 525-41.
7. Greer CE, Wheeler CM, Ladner MB, dkk. Human papillomavirus (HPV) type Distribution and Serological Response to HPV type 6 Virus-like Particles in Patients with Genital Warts. *J Clin Microbiol* 1995; 33:2058-63.
8. Lörincz AT, Reid R, Jenson AB, dkk. Human Papillomavirus Infection of the Cervix: Relative Risk Associations of 15 Common Anogenital Types. *Obstet Gynecol.* 1992; 79: 328-37.
9. Maciag PC, Villa LL. Genetic Susceptibility to HPV Infection and Cervical Cancer. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research.* 1999; 32: 915-22.
10. Maria OOC, Almeida RW, Leite FMS, dkk. Detection of Human Papillomavirus DNA by the Hybrid Capture Assay. *Braz. J. Infect. Dis.* 2003; 7(2): 121-5.
11. Marianda GW. Harapan Baru dalam Penanganan Kanker yang Terinfeksi Human Papillomavirus dengan Penggunaan Vaksin. Denpasar: Program Pendidikan Dokter Spesialis Ilmu Kebidanan dan Penyakit Kandungan Fakultas Udayana, 2004.
12. Muñoz N, Bosch FX, de Sanjosé S, dkk. Epidemiologic classification of human papilloma virus types associated with cervical cancer. *N. Engl. J. Med.* 2003; 348(6): 518-2.
13. Nuswantara S. Deteksi Human Papilloma Virus dalam Pencegahan Dini Kanker Leher Rahim. Bandung: Seminar Deteksi Dini dan Penanganan Terkini Kanker Leher Rahim. Santosa Bandung International Hospital, 2008.
14. Rasjidi I. Panduan Penatalaksanaan Kanker Ginekologi. Jakarta: EGC, 2008.
15. Schiffman MH, Kiviat NB, Burk RD, dkk. Accuracy and interlaboratory reliability of human papillomavirus DNA testing by hybrid capture. *J Clin Microbiol.* 1995; 33: 545-550.
16. Slawa S, Klimek M, Zawilinska B, Kopec J, Daszkiewicz E. Detection of human papillomavirus in cervical cell specimens by hybrid capture and PCR with different primers. *Acta Biochimica Polonica.* 2006; 53(3): 603-607.
17. Sun CA, Liu JF, Wu DM, dkk. Viral load of high-risk human papillomavirus in cervical squamous intraepithelial lesions. *Int J Gynecol Obstet.* 2002; 76: 41-47.
18. Terry G, Ho L, Londesborough P, dkk. Detection of high-risk HPV types by the hybrid capture 2 test. *J Med Virol.* 2001; 65:155-162.
19. Torpy JM, Burke AE, Glass RM. Human Papillomavirus Infection. *JAMA* 2007; 297(8): 912.
20. Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, dkk. Human Papillomavirus is a Necessary Cause of Invasive Cervical Cancer Worldwide. *J. Pathol.* 1999; 189(1): 12-9.
21. Winer RL, Kiviat NB. Development and Duration of Human Papillomavirus Lesions, After Initial Infection. *J Infect Dis.* 2005; 191(5): 731-738.
22. Wright TC, Cox JT, Massad LS, Twiggs LB, Wilkinson EJ. Consensus Guidelines for the Management of Women with Cervical Cytological Abnormalities. *JAMA* 2002; 287(16): 2120-212.