

## KIT DETEKSI KANKER LEHER RAHIM BERBASIS ANTIBODI TELOMERASE: PENDEKATAN SECARA IMMUNOMOLEKULAR

Furqan Hidayatullah<sup>1)</sup>, Andreas Budi Wijaya<sup>2)</sup>, Camoya Gersom<sup>3)</sup>, Faizal Reza Pahlevi<sup>4)</sup>, Veronica Verina Setyabudhi<sup>5)</sup>

<sup>1</sup>Pendidikan dokter, Fakultas kedokteran, Universitas Brawijaya  
[Biomol.furqan@gmail.com](mailto:Biomol.furqan@gmail.com)

<sup>2</sup>Pendidikan dokter, Fakultas kedokteran, Universitas Brawijaya  
[andreasbudijaya@ymail.com](mailto:andreasbudijaya@ymail.com)

<sup>3</sup>Pendidikan dokter, Fakultas kedokteran, Universitas Brawijaya  
[gersom.fate@gmail.com](mailto:gersom.fate@gmail.com)

Pendidikan dokter, Fakultas kedokteran, Universitas Brawijaya  
[faizalreza\\_pahlevi@yahoo.co.id](mailto:faizalreza_pahlevi@yahoo.co.id)

<sup>5</sup>Pendidikan dokter, Fakultas kedokteran, Universitas Brawijaya  
[verina\\_veronica@hotmail.com](mailto:verina_veronica@hotmail.com)

### *Abstract*

*Cervical cancer is the first leading cause of cancer death in Indonesia. About 95% telomerase activity is associated with cervical cancer's malignancy. Therefore, telomerase is very potential as a biomarker for cervical cancer detection. This research's purpose is to produce cut-off point of cervical cancer telomerase. Telomerase antibody is produced and detected using Western Blotting and ELISA, 15 samples of each cancer and normal patients were collected from RSSA. ELISA Absorbance value of antibody and antigen binding were collected and analyzed using independent t-test and ROC. cut off point is found at 0.092 with 81,25% specificity and 80% sensitivity.*

**Keywords:** *Cervical Cancer, Telomerase, Telomerase Antibody, Cut-Off point*

### 1. PENDAHULUAN

Kanker leher rahim (kanker serviks) merupakan penyebab kematian akibat keganasan nomor tiga di dunia. Namun, di Indonesia, kanker leher rahim merupakan kanker pembunuh nomor satu dengan persentase sekitar 25,91% dari seluruh kanker<sup>1</sup>. Pendeteksian dini (*routine screening*) merupakan langkah yang sangat penting dalam upaya penghambatan progresivitas kanker serviks. Melalui *screening* rutin, perubahan awal sel normal menjadi sel ganas dapat dideteksi dan diketahui lebih dini sehingga lesi pre-kanker tidak akan berkembang lebih lanjut menjadi kanker leher rahim. Menurut *American Cancer Society* (ACS) pada tahun 2012, setiap wanita sebaiknya melakukan *screening* kanker leher rahim pada usia 30-45 tahun setiap 5 tahun. Saat ini, deteksi dini kanker leher rahim yang paling umum diaplikasikan adalah Pap Smear. Namun, ternyata masih banyak pasien yang datang dengan kanker leher rahim stadium lanjut. Salah satu keunggulan metode Pap Smear adalah metode ini mampu

membedakan derajat lesi ke arah kanker (CIN), namun kurang sensitif untuk mendeteksi proses karsinogenesis tanpa lesi maupun kanker yang telah menginvasi jaringan lain secara nyata.

Salah satu sifat penting sel kanker adalah sel kanker merupakan sel yang *immortal* dan tidak mempunyai *anchorage dependence* (faktor pertumbuhan yang biasanya diperlukan sel normal untuk mulai membelah), yang membuatnya berbeda dengan kebanyakan sel pada umumnya<sup>2</sup>. Sifat *immortal* sel kanker terjadi karena adanya protein **telomerase**. Penerima *Prize Nobel of Medicine* 2009, Elizabeth Blackburn dari *University of California*, Carol Greider dari *Hopkins University School of Medicine* dan Jack Szostak dari *Harvard Medical School*, berhasil membuktikan bahwa telomerase berperan dalam memperpanjang telomer sebagai bentuk protektif terhadap proses pemendekan telomer yang terjadi tiap pembelahan sel kanker, termasuk sel kanker leher rahim. Telomerase merupakan sebuah *reverse transcriptase* yang

membawa molekul RNA-nya sendiri, yang digunakan sebagai cetakan ketika telomerase memperpanjang telomer yang semakin pendek tiap kali terjadi siklus replikasi DNA. Telomerase memiliki 2 komponen utama, yaitu subunit katalitik (hTERT) dan RNA *template* (hTR). Melalui aktivasi telomerase, sel menjadi *immortal*, dimana kromosomnya tak akan memendek ataupun menjadi tidak stabil, meskipun sel tersebut telah membelah berulang<sup>3</sup>. Peranan telomerase pada kanker serviks sangat vital, hal ini dibuktikan dengan adanya aktivitas protein telomerase hingga 95% pada Kanker leher rahim. Akibatnya, sel kanker menjadi immortal dan pembelahan sel kanker menjadi tidak terkontrol<sup>4</sup>. Aktivitas protein telomerase diyakini sangat berpengaruh pada proses proliferasi kanker leher rahim. Hal ini dibuktikan Hidayatullah *et al.*, 2012 melalui pengamatan penurunan proliferasi kanker serviks dengan menggunakan antibodi yang secara spesifik mampu mengikat telomerase pada sel HeLa (sel kanker leher rahim). Hasilnya pada MTT assay didapatkan penurunan yang signifikan pada sel HeLa yang terpapar antibodi telomerase dengan konsentrasi 2 $\mu$ g dengan  $P=0.032$ , selain itu pengamatan *cellular* menggunakan immunohistokimia menunjukkan terdapat penurunan proliferasi sel HeLa yang semakin tinggi setiap kali terjadi peningkatan paparan dosis antibodi telomerase<sup>5</sup>. Hal ini mengkonfirmasi bahwa antibodi mampu mengenali telomerase secara spesifik pada kanker serviks.

Pendeteksian dini kanker leher rahim merupakan salah satu kunci dalam menghentikan proliferasi kanker leher rahim, namun kurangnya akses menuju fasilitas kesehatan dan tingginya *false positive* pada metode PAP *smear* pada saat ini mengindikasikan perlunya sebuah alat deteksi baru yang lebih spesifik, sensitif, dan terjangkau. Tingginya aktivitas protein telomerase pada kanker serviks diyakini sangat potensial untuk dapat dijadikan sebagai sebuah marker dalam pendeteksian kanker leher rahim menggunakan antibodi telomerase. Harapannya antibodi mampu mengenali telomerase pada kanker serviks sehingga dapat ditentukan suatu nilai *cut-off* perbedaan konsentrasi protein telomerase pada sel kanker leher rahim dan sel kanker normal.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk memperoleh bukti bahwa kadar telomerase dapat digunakan sebagai indikator dalam pendeteksian kanker leher rahim (kanker serviks) manusia pada sampel *cervical smear* pasien.

## 2.METODE

### A Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain eksperimen murni (*true experimental design*) di laboratorium secara *in vitro*. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah sampel *cervical smear* pasien yang telah diperoleh dari pasien yang melakukan Pap Smear. Variabel tergantungan dalam penelitian ini adalah banyaknya ikatan antigen-antibodi telomerase pada sampel *cervical smear* pasien setelah pengamatan dengan ELISA.

Sampel penelitian adalah *cervical smear* pasien yang diperoleh dari Rumah Sakit Saiful Anwar Malang. *Cervical smear* diperoleh dari 25 pasien kanker leher rahim dan 20 pasien normal sebagai kontrol. Diagnosis klinis ditegakkan menggunakan Pap Smear. Sampel didapatkan dari endoserviks maupun ektoserviks. Penelitian dilakukan di Laboratorium Biomedik FKUB, Laboratorium Fisiologi FKUB, serta Laboratorium Biokimia FMIPA Universitas Brawijaya. Sampel *cervical smear* didapatkan dari pasien Rumah Sakit Saiful Anwar Malang.

### B Alat Dan Bahan Penelitian

1. Perawatan kelinci  
Kelinci jantan albino 4 ekor, kandang 80 cm x 40 cm x 30 cm 4 buah, terbuat dari kayu, botol air dan tempat makan masing-masing 2 buah, pakan 4 karung, anti-gudig oles.
2. Produksi Antibodi Telomerase  
*Telomerase human peptide* 100 $\mu$ l, 20 ml Tris-Cl pH 6,8, PBS (*Phosphate Buffer Saline*) 100ml, Vacutainer Heparin 4 ml, *disposable* spuit 3zml, Complete Freund's Adjuvant (CFA), Incomplete Freund's Adjuvant (IFA) 1 ml
3. Purifikasi Antibodi Telomerase  
*Centrifuge tube* 1.5 ml, blue tips, Sentrifuge dingin-Low RPM (Hettich), Membran dialisis 25mlx1, Natrium Karbonat, Amonium sulfat (Merk), EDTA, Natrium Klorida, Di-kalium Hidrogen Fosfat, Di-

- natrium Hidrogen Fosfat, Selovan, , Aquadest steril, Handscone
4. Pendeteksian Antibodi Telomerase  
Elektroforesis, Acrlamida 30% (50ml), Pembuatan Gel, SDS 10%, APS 10%, Protein marker, Yellow tips, Blue tips, Semi Dry Trans Blot, Elektroforesis Vertical App, Western Blotting, Tris HCL pH 8,8 (50 ml), Skim milk, Tween 20, Tris-base, Membran Nitrocellulose, Ponceau (100ml)/WB
  5. Ekstraksi Protein Spesimen  
Tripsin-EDTA pH 8.0, NaCl, Tris-HCl pH 7.6, Aprotinin, PMSF Deionized water, S spuit 10 ml, Eppendorf, Blue tip, White tip, Yellow tip, Falcon 15ml, Falcon 30ml
  6. Pendeteksian Aktivitas Telomerase Sampel dengan ELISA  
Rabbit-anti human IgG, SA-HRP, TMB Membrane, Sentrifuge RT, ELISA Plate, BSA, TMB microwell peroksidase, ELISA Reader, PBS.
  7. Pendeteksian Aktivitas Telomerase Sampel dengan *Dot Blot*  
Protein marker, Yellow tips, Blue tips, Tris HCL pH 8,8 (50 ml), Skim milk, Tween 20, Tris-base, Membran Nitrocellulose, Ponceau.

### C Prosedur Penelitian

#### **Produksi Antibodi Telomerase**

Protein *Human Telomerase Peptide* diinjeksikan pada dua ekor kelinci jantan berusia 12-16 minggu secara subkutan. Sebelum penginjeksian, antigen telomerase diemulsikan ke dalam *Complete Freund Adjuvant* (CFA) untuk penginjeksian awal. *Booster* pertama dan kedua dilaksanakan pada minggu ke-3 dan ke-7 dengan menggunakan antigen yang sama, melalui pengemulsian ke dalam *Incomplete Freud Adjuvant*. Tujuan *booster* adalah untuk menginduksi respon imun sekunder yang akan meningkatkan respon antibodi terhadap telomerase pasca injeksi awal. Sebagai darah kontrol, sampel darah kelinci juga diambil sebelum antigen diinjeksikan. Setelah *booster* pertama pada minggu ke-2, maka dilakukan pengambilan darah setiap minggunya secara berturut-turut sejak minggu ke-3 hingga minggu ke-7. Demikian pula pengambilan darah berikutnya dapat dilakukan sejak minggu ke-9 hingga minggu ke-13 pasca *booster* kedua

(dilakukan pada minggu ke-8). Serum darah dikumpulkan untuk dimurnikan.

#### **Purifikasi Antibodi**

Darah yang telah terkumpul dibiarkan pada suhu kamar (27°C) selama 4 jam, lalu disentrifus pada kecepatan 3500 rpm (15 menit) untuk mendapatkan serumnya. Serum yang terkumpul diharapkan telah memiliki antibodi terhadap *Human Telomerase Peptide*, untuk mendapatkan antibodi konsentrat akan dilakukan purifikasi/pemurnian antibodi menggunakan metode SAS (*Saturated Ammonium Sulfate*). Setelah *overnight* suspensi antibodi, didapatkan konsentrat antibodi IgG poliklonal terhadap antigen *human telomerase peptide*.

#### **Profiling Protein Dan Pendeteksian Antibodi Telomerase**

Untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan karakteristik protein telomerase yang terdapat pada *telomerase human peptide*, apusan kanker leher rahim dan apusan sel leher rahim normal diperlukan suatu uji profiling protein. Metode SDS PAGE digunakan untuk *profiling* protein yang terdapat pada *human telomerase peptide*, protein hasil ekstrak sampel leher rahim pasien normal, serta sampel limfosit remaja pria dan anak perempuan yang belum akil balig. Untuk mengetahui kemampuan antibodi telomerase yang dihasilkan dalam penelitian ini dalam mengikat telomerase diperlukan *immunoblotting*, *Western Blotting* digunakan untuk mendeteksi ikatan antibodi telomerase yang diproduksi dalam penelitian ini dengan antigen terkait telomerase.

#### **Ekstraksi Protein Terkait Telomerase Sampel Biopsi, Apusan Leher rahim Pasien, dan Sel Limfosit Normal**

Sampel biopsi, apusan ektoleher rahim-endoleher rahim pasien kanker leher rahim serta sampel limfosit pasien normal akan dianalisis kadar telomerasanya secara kuantitatif. Sampel yang diperoleh disuspensikan pada 5 ml *ice cold phosphate buffered saline* dan dibiarkan pada suhu dingin hingga saat *processing*. Pada suspensi sel ini, 4 ml disentrifugasi dan dicuci dengan *wash buffer*, 1.5mM MgCl<sub>2</sub>, 10mM KCl, dan 1mM dithiothreitol). 25 sampel jaringan leher rahim dicampurkan dengan *lysis buffer* (100 mMNaCl; 10 mMTris-HCl, pH7.6; 1 mM

EDTA, pH 8.0; 1 µg/ml aprotinin; and 100 µg/ml PMSF) dan dihomogenisasi dengan *sonication*. Sel limfosit pasien normal juga diekstraksi untuk mendapatkan supernatannya.

### Penentuan Kadar Telomerase Pada Sampel melalui ELISA

Metode ELISA digunakan untuk mengukur *cut-off* kadar telomerase sampel serta mengetahui sensitivitas-spesifitas kadar telomerase dalam pendeteksian kanker leher rahim, jika dibandingkan dengan kadar telomerase pada sampel sel normal. Kemampuan antibodi telomerase dalam mengikat antigen telomerase hasil ekstraksi *cervical smear* pasien normal maupun kanker leher rahim menjadi indikator keberhasilan pendeteksian. Nilai *cut-off* kadar telomerase pasien kanker leher rahim dan pasien normal dapat tercermin dari hasil absorbansi yang didapatkan melalui ELISA.

Pada supernatan hasil ekstraksi sampel, dilakukan pengenceran dengan *assay buffer*(1:10). Hasilnya diinkubasikan dalam *microplateovernight*, 4°C. Suspensi sampel dicuci dengan PBS-Tween sebanyak 3 kali @5 menit. Tambahkan 50µL *blocking buffer* (BSA 1% dalam PBS selama 45 menit). Reagen dicuci dengan PBS-Tween selama 3 kali @5 menit. Inkubasi dengan 100µl antibodi primer (antibodi telomerase) dalam larutan PBS-BSA 1% dengan perbandingan 1:250 selama 2 jam. Suspensi diambil dan dicuci kembali dengan PBS-Tween 3 kali @5 menit, dilanjutkan dengan inkubasi antibodi sekunder dalam *Tris Buffer Saline* dengan perbandingan 1:1000 dan diinkubasi 90 menit. Suspensi diambil dan dicuci dengan PBS-Tween selama 2 kali @5 menit. Tambahkan 50µL antibodi sekunder berlabel AP (*Alkaline Phosphatase*) dan inkubasi 30 menit. Cuci dengan PBS-Tween selama 2 kali @5 menit. Substrat BCIP/NBT dimasukkan dan diinkubasi selama 30 menit. Reaksi dihentikan dengan menambahkan NAOH 3M selama 15 menit. Hasil dibaca pada ELISA reader dengan  $\lambda$  405 nm.

### Pengumpulan Data dan Penentuan Nilai Cut-Off

Pengambilan data kadar telomerase dilakukan setelah nilai absorbansi sampel pasien diperoleh melalui pengukuran ELISA. Analisis *independent T-test* dilakukan untuk melihat

apakah kedua kelompok penelitian berbeda secara signifikan. Untuk menguji hubungan kadar telomerase terhadap manifestasi kejadian kanker leher rahim, maka digunakan uji korelasi *Pearsson* ataupun *Spearman* dengan SPSS 17.0. Sementara itu, untuk menunjukkan bahwa kadar telomerase sel apusan leher rahim dapat digunakan sebagai indikator pendeteksian kanker leher rahim, maka dilakukan analisa ROC (*Receiver Operating Characteristic*), dimana hasil analisa ROC akan menunjukkan titik *cut off* kadar telomerase dalam satuan RGB bv. Dengan menggunakan analisa ROC SPSS 17 terhadap kadar telomerase, dalam hubungannya dengan manifestasi kejadian kanker leher rahim, maka akan diperoleh titik koordinat untuk menghitung sensitivitas serta spesifitasnya. Titik koordinat *cut-off* dipakai sebagai acuan penghitungan PPV, NPV, serta akurasi.

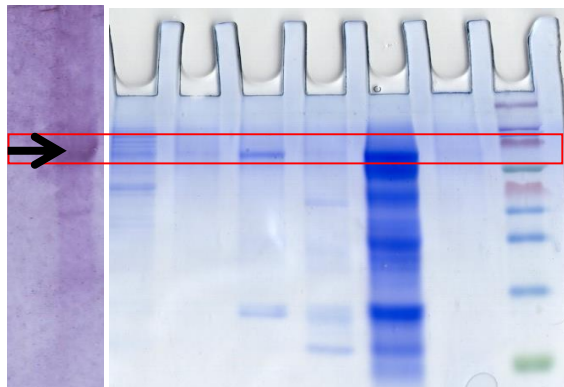
## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

### A Produksi, Pendeteksian, dan Uji Antigenitas Antibodi Telomerase

Setelah antigen *human telomerase peptide* diinjeksikan pada tubuh kelinci, panen (pengambilan darah) dilakukan sebanyak 10 kali untuk produksi antibodi telomerase. Serum darah yang telah dikumpulkan, selanjutnya dipurifikasi menggunakan metode SAS (*Saturated Ammonium Sulfate*) untuk mendapatkan konsentrat IgG poliklonal. Antibodi yang telah berhasil diproduksi, akan dideteksi menggunakan metode *Western Blotting* dan ELISA.

Semua sampel dikarakterisasi terlebih dahulu dengan menggunakan metode SDS PAGE. Selanjutnya, dilakukan perbandingan profil antara antigen *human telomerase peptide* dengan protein terkait telomerase dari sampel pasien kanker leher rahim serta pasien wanita normal. Selain itu, dilakukan identifikasi dan karakterisasi protein terkait telomerase pada sampel limfosit normal (limfosit anak remaja laki-laki dan anak perempuan yang belum akil balig), untuk mengetahui perbedaan struktur telomerase pada sel normal dengan *low activity of telomerase*. Dari hasil *Western Blotting* dan SDS PAGE, didapatkan data bahwa pada berat molekul 70 kDa, terdapat kesamaan *band* antara sampel sel kanker leher rahim, apusan leher rahim normal, dan sel limfosit normal. Demikian pula, pada ekstrak sampel biopsi pasien kanker

leher rahim didapatkan ikatan antigen-antibodi pada berat molekul 70 kDa (**Gambar 1**). Pada *Western Blotting* ini, digunakan antibodi sekunder berlabel Biotin dan substrat TMB.



Gambar 1. *Profiling* Karakter Protein pada Sampel Sel Kanker Leher rahim, Apusan Leher rahim Normal, Sel Limfosit Normal.

Keterangan:

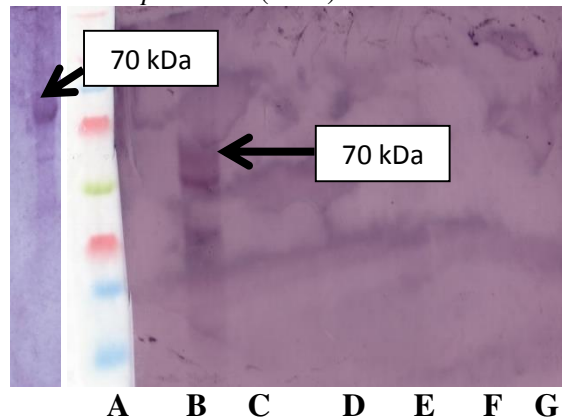
\* Hasil *Western Blotting* antibodi telomerase dengan ekstrak sampel pasien kanker leher rahim

- A. Marker
- B. Antigen *Human Telomerase Peptide*
- C. Ekstrak Sampel Biopsi Pasien Kanker Leher rahim
- D. Ekstrak Sampel Apusan Ektoleher rahim Pasien Normal
- E. Ekstrak Sampel Apusan Endoleher rahim Pasien Normal
- F. Ekstrak Limfosit Anak Perempuan Belum Akil Balig
- G. Ekstrak Limfosit Anak Remaja Pria

Berdasarkan hasil *Western Blotting* terhadap berbagai sampel pasien, dilakukan pengamatan ikatan antigen terhadap antibodi telomerase yang dihasilkan dalam penelitian ini. Pada *Western Blotting* kedua ini, digunakan antibodi sekunder berlabel *Alkaline Phosphatase* (AP) dan substrat BCIP/NBT. Ikatan antara antibodi telomerase dengan ekstrak sampel biopsi sel kanker leher rahim memunculkan beberapa *band* protein, dengan komponen telomerase utama berada pada kisaran berat molekul 70 kDa.

Sementara itu, ikatan antibodi telomerase dengan antigen *human telomerase peptide* murni juga memunculkan *band* protein pada berat molekul yang sama, yaitu 70 kDa. Pada ekstrak sampel apusan serviks pasien normal-ektoserviks dan endoserviks, serta sel limfosit anak perempuan yang belum akil balig,

tidak dijumpai adanya *band* protei terkait telomerasen. Namun, pada ekstrak sampel limfosit remaja pria, dijumpai adanya 1 band protein terkait telomerase (**Gambar 2**). Antigen telomerase yang direspon oleh antibodi poliklonal telomerase merupakan protein telomerase manusia (*synthetic peptide*) yang berasal dari residu 550-650 *human telomerase*, dengan panjang protein yaitu 1132 asam amino. Nama lain dari peptida ini: hTERT/*Telomerase associated protein-2* (TP-2).

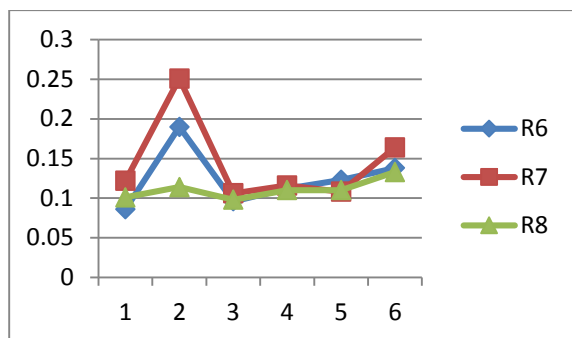


Gambar 2. Hasil *Western Blotting* Sampel Sel Kanker Leher rahim, Apusan Leher rahim Normal, Sel Limfosit Normal.

Keterangan:

\* Hasil *Western Blotting* antibodi telomerase dengan ekstrak sampel pasien kanker leher rahim

- A. Marker
- B. Antigen *Human Telomerase Peptide*
- C. Ekstrak Sampel Biopsi Pasien Kanker Leher rahim
- D. Ekstrak Sampel Apusan Ektoleher rahim Pasien Normal
- E. Ekstrak Sampel Apusan Endoleher rahim Pasien Normal
- F. Ekstrak Limfosit Anak Perempuan Belum Akil Balig
- G. Ekstrak Limfosit Anak Remaja Pria



Grafik 1. Hasil ELISA Menunjukkan Terjadinya Peningkatan Kadar Antibodi Sesuai Dengan Konsep Imunitas Sekunder

Pada penelitian sebelumnya, kadar antibodi telomerase telah mencapai puncak pertamanya pada minggu ke-3 setelah *booster* pertama. Titer antibodi akan menurun pada minggu ke-4 dan ke-5. Oleh karena itu, untuk mendapatkan titer yang lebih tinggi, dilakukan *booster* ke-2. Berdasarkan hasil ELISA yang dilakukan pada serum kelinci pada minggu ke 6 sampai minggu ke-8, titer antibodi telomerase tertinggi didapati pada minggu ke-7 (**Grafik 1**). Sesuai dengan konsep imunitas sekunder, setelah *booster* ke-2, yaitu pada minggu ke-6, terjadi peningkatan yang signifikan dari antibodi telomerase. Hal ini menunjukkan bahwa *human telomerase peptide* memiliki antigenitas yang baik dan merupakan imunogen yang mampu menghasilkan antibodi secara adekuat.

## B Pengumpulan Sampel dan Ekstraksi Sampel

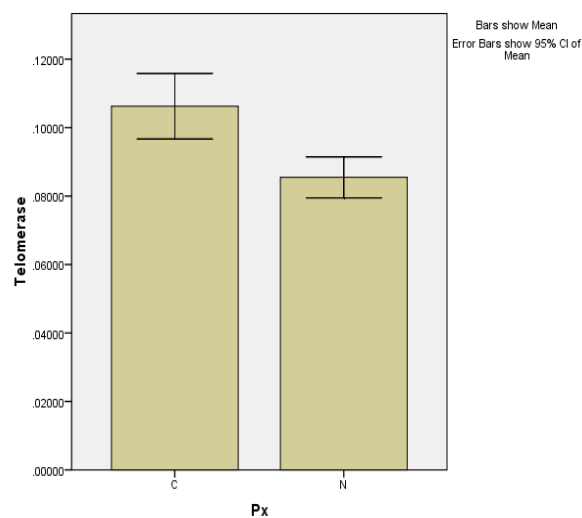
Pada penelitian ini, sampel biopsi penderita dengan diagnosis kanker serviks berbagai stadium dikumpulkan bersama dengan data pendukungnya, dengan total sampel 16 pasien. Sampel pasien yang dikumpulkan meliputi pasien dengan stadium kanker serviks IB hingga IIIB. Di samping itu, telah dikumpulkan pula sampel apusan serviks 15 pasien dengan gambaran sitologis normal (tidak menunjukkan adanya displasia/metaplasia). Sampel yang telah diperoleh akan dianalisis hasil kadar telomerasenya dan ditentukan nilai *cut-off*nya.

## C ELISA, *Independent T-Test* dan Penentuan Nilai *Cut-Off* dengan ROC (*Receiver Operating Characteristics*)

ELISA digunakan untuk mengukur kadar telomerase pada sampel yang telah diekstraksi. Ikatan antara antigen-antibodi

telomerase pada ELISA akan menentukan kadar protein telomerase yang terdapat pada sampel, dimana kompleks ikatan yang terbentuk antara antigen-antibodi ini akan diamati absorbansinya secara kuantitatif pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 450 nm. Nilai absorbansi ELISA akan digunakan sebagai bahan baku untuk analisis *independent t-test* dan penentuan nilai *cut-off* (ROC).

Setelah mendapatkan kadar telomerase sampel berdasarkan analisis absorbansinya, analisis *independent T-test* dilakukan untuk melihat apakah kedua kelompok penelitian berbeda secara signifikan. Apabila kadar telomerase sel kanker serviks dan sel normal berbeda secara signifikan, maka dapat ditentukan suatu *cut off* yang mampu menjadi indikator dalam pendeteksian kanker leher rahim. Hasil interpretasi menggunakan *Independent T-Test* ternyata menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara kadar telomerase pasien kanker leher rahim dan pasien normal ( $p=0,01$ ) (**Grafik 2**).



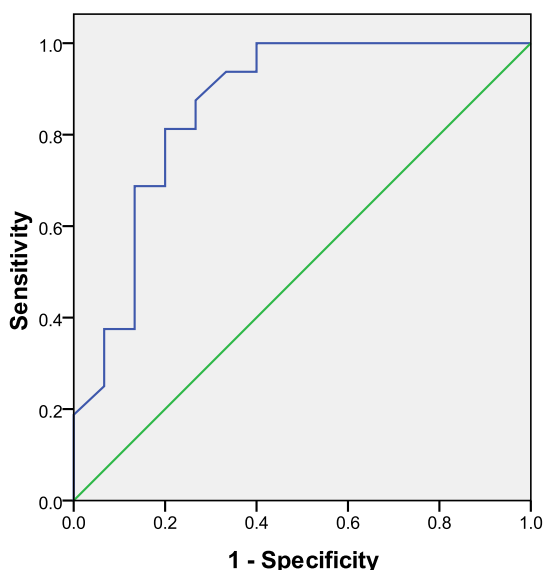
Grafik 2. Hasil *Independent T-Test* Menunjukkan Terdapat Perbedaan Aktivitas Telomerase yang Signifikan Antara Sel Normal dan Sel Kanker Leher Rahim ( $p=0.01$ )

Selain itu, berdasarkan hasil ROC (**Grafik 3**), pada titik *cut off* kadar telomerase 0,092 (*absorbance point*), didapati sensitivitasnya sebesar 81,25%. Artinya, pada titik *cut off* ini, dapat dideteksi kadar telomerase pasien yang berpotensi menderita kanker leher rahim sebesar 81,25% dan 18,75% tidak menjadi kanker leher rahim. Dengan spesifitas 80%, berarti 80% pasien yang kadar telomerasenya



dibawah 0,092 tidak akan menderita kanker leher rahim. Dengan demikian, hanya 20% pasien dengan kadar telomerase dibawah 0,092 yang dapat menderita kanker leher rahim. Hasil PPV 81,25%, berarti tes tersebut mendapat hasil positif pada pasien kanker leher rahim sebesar 81,25% dan 18,75% hasil tes positif pada pasien normal. Hasil NPV 80% berarti hasil negatif pada pasien normal sebesar 80% dan 20% hasil negatif yang menjadi kanker leher rahim. Dengan akurasi 80,65%, berarti dapat terjadi 19,35% kesalahan diagnostik.

#### ROC Curve



Grafik 3. Kurva Hasil ROC

Cut off point 0,092

|         |     |           |
|---------|-----|-----------|
| Positif | 13  | 3         |
| Negatif | 3   | 12        |
|         | Ada | Tidak ada |

#### 5. REFERENSI

1. National Center for HIV/AIDS, Viral Hepatitis, STD, and TB Prevention. 2010. Fact Sheet: Genital HPV, (online) (<http://www.cdc.gov/std/hpv/stdfact-hpv.htm>, diakses 26 Juli 2011)
2. Campbell NA, Reece JB, Mitchell LG. 2005. Biologi edisi 1. Erlangga

Sens 81.25% Spes 80% PPV 81.25% NPV 80% Akurasi 80.65%

#### 4. KESIMPULAN

Kadar telomerase dapat digunakan sebagai indikator dalam pendeteksian kanker leher rahim (kanker serviks) manusia pada sampel *cervical smear* pasien, dimana kadar protein telomerase berbeda secara signifikan pada sel kanker serviks dan sel serviks normal ( $p= 0.01$ ). *Cut-off point* dari protein telomerase pada sel kanker adalah 0.092 (*absorbance point*), dengan tingkat spesifisitasnya mencapai 81,25% dan tingkat sensitivitasnya mencapai 80%

#### SARAN

Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk menentukan apakah *cut off* kadar telomerase pada sel kanker serviks dapat digunakan sebagai uji diagnostik kanker leher rahim menggunakan sampel yang lebih banyak lagi untuk mengurangi *bias error*. Selain itu diperlukan penelitian yang berkelanjutan untuk meningkatkan kualitas dari nilai *cut-off* yang didapatkan dengan cara menambah sampel penelitian. Selain itu, masih diperlukan penelitian lebih lanjut terkait komponen protein telomerase yang memiliki peran paling penting dalam progresivitas maupun imortalitas sel kanker serviks, berdasarkan *binding site* yang telah diidentifikasi pada penelitian ini. Dengan demikian, dapat diproduksi suatu antibodi monoklonal yang lebih spesifik dan hanya mengenali 1 *antigenic sites*.

3. Cohen S, Graham M, Lovrecz G, Bache N, Robinson P, Reddel R (2007). "Protein composition of catalytically active human telomerase from immortal cells". *Science* 315 (5820): 1850–3doi:10.1126/science.1138596. PMID 17395830
4. Raquel, Catarino., Araújo, António., Coelho, Ana., Gomes, Mónica., Nogueira, Augusto., Lopes, Carlos., and Medeiros, Rui M. 2010. Prognostic Significance of Telomerase

Polymorphism in Non–Small Cell Lung Cancer.  
Clinical Cancer Research.

5. Hidayatullah, Furqan., Wijaya, Andreas  
Budi., Pahlevi, Faizal Reza; Restantin, Riris  
Linda., Nugroho, Radhitio Adi. 2012. Efek  
Antibodi Telomerase Sebagai Agen Terapi  
Kanker Leher Rahim : Pendekatan Secara

Biomolekular. PKM-P DIKTI 2012.  
Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas  
Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.  
Pembimbing: Prof. DR. dr. M. Rasjad  
Indra, MS