

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar belakang

Kanker kolorektal merupakan salah satu jenis kanker dengan prevalensi relatif tinggi di dunia, menempati urutan ketiga dalam angka kejadian dan urutan kedua dalam angka kematian dari total kasus yang terdiagnosis (H. Sung et al., 2021). Di Indonesia, insiden kanker kolorektal menunjukkan tren peningkatan setiap tahunnya, terutama pada kelompok usia produktif, sehingga menjadi isu kesehatan masyarakat yang mendesak (Purnomo et al., 2023; Puspitaningtyas et al., 2024). Karakterisasi molekuler terhadap perubahan genetik yang berperan dalam inisiasi dan progresi kanker kolorektal menjadi aspek penting dalam memahami patogenesis penyakit serta mendukung pengembangan pendekatan diagnostik dan terapeutik yang lebih terarah.

Salah satu gen utama yang berperan dalam patogenesis kanker kolorektal adalah gen *Adenomatous Polyposis Coli (APC)*, gen penekan tumor yang terletak pada kromosom 5q21-q22 (Norollahi et al., 2020). Mutasi pada gen ini menyebabkan disregulasi jalur Wnt/ β -catenin, yang mengakibatkan proliferasi sel abnormal dan pembentukan adenoma, tahap awal dari perkembangan kanker kolorektal (Zhao et al., 2022). Mutasi gen *APC* dikenal sebagai *gatekeeper mutation* dalam karsinogenesis kolorektal dan banyak digunakan sebagai indikator perubahan molekuler pada jaringan tumor. Meskipun demikian, spektrum mutasi gen *APC* bersifat sangat heterogen, baik dari segi jenis maupun lokasi mutasinya. Distribusi mutasi gen *APC* juga diketahui bervariasi antar populasi, sehingga hasil penelitian pada suatu populasi belum tentu dapat langsung digeneralisasi pada populasi lainnya (Christie et al., 2013; Inra et al., 2015).

Salah satu penelitian yang mengkaji mutasi gen *APC* pada pasien kanker kolorektal di Indonesia dilakukan oleh Marbun et al., (2022) yang melaporkan bahwa varian c.2635C>T (p.Gln879Ter) merupakan variasi nukleotida yang paling sering ditemukan pada subjek penelitian tersebut. Temuan ini mengindikasikan kemungkinan adanya karakteristik pola mutasi pada populasi

Indonesia, namun masih memerlukan validasi melalui penelitian lanjutan dengan populasi yang lebih luas.

Identifikasi mutasi gen secara akurat umumnya dilakukan menggunakan sekuensing Sanger, yang hingga saat ini masih dianggap sebagai *gold standard* dalam analisis mutasi genetik karena tingkat akurasi yang tinggi. Namun sekuensing Sanger memiliki keterbatasan berupa waktu pengerjaan yang panjang terutama ketika diterapkan pada jumlah sampel yang besar (L. Chen et al., 2014). Selain itu, proses sekuensing Sanger memerlukan tahapan pasca-amplifikasi seperti purifikasi produk, reaksi cycle sequencing, serta analisis kromatogram, yang relatif memakan waktu dan biaya apabila diterapkan pada jumlah sampel yang besar. Sebagai alternatif, *High Resolution Melting* (HRM) berkembang sebagai pendekatan yang mampu mengidentifikasi variasi sekuens DNA melalui perbedaan profil denaturasi termal fragmen DNA, sehingga berpotensi digunakan sebagai metode deteksi awal variasi nukleotida tanpa memerlukan proses sekuensing secara langsung (Zhao et al., 2022).

Teknik *High Resolution Melting* (HRM) memungkinkan identifikasi awal adanya variasi nukleotida, sehingga berpotensi digunakan sebagai alat deteksi variasi nukleotida yang lebih efisien dari segi waktu dan biaya. Penelitian oleh Miranda et al., (2019) melaporkan bahwa metode HRM memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi dalam deteksi mutasi pada kanker kolorektal, dengan kinerja yang sebanding dengan metode sekuensing tingkat lanjut seperti *Next-Generation Sequencing* (NGS). Meskipun HRM tidak memberikan informasi spesifik mengenai jenis dan lokasi mutasi, teknik ini efektif digunakan sebagai metode *pre-sequencing* dan profil pelelehan abnormal dapat dikonfirmasi menggunakan sekuensing Sanger sebagai standar emas karakterisasi mutasi (Obul et al., 2012).

Meskipun berbagai penelitian telah menunjukkan bahwa HRM memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi dalam mendeteksi variasi nukleotida, performanya diketahui dipengaruhi oleh karakteristik perubahan nukleotida, daerah target amplifikasi, desain primer, serta karakteristik populasi yang diteliti (Cousins et al., 2013). Oleh karena itu, evaluasi penerapan HRM pada variasi nukleotida c.2635C>T yang dilaporkan pada populasi Indonesia menjadi

penting. Hingga saat ini belum terdapat penelitian yang mengevaluasi kemampuan HRM dalam mendeteksi variasi nukleotida c.2635C>T pada sampel kanker kolorektal berbasis jaringan di Indonesia serta mengonfirmasi hasilnya menggunakan sekuensing Sanger. Penelitian ini diharapkan dapat mengisi kesenjangan tersebut sekaligus memberikan informasi mengenai potensi penerapan HRM sebagai metode deteksi awal variasi nukleotida pada gen *APC* pada populasi Indonesia.

Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi penerapan metode *High Resolution Melting* (HRM) sebagai metode deteksi variasi nukleotida pada gen *APC* pada sampel kanker kolorektal, serta melakukan konfirmasi menggunakan sekuensing Sanger terhadap sampel yang menunjukkan deviasi profil kurva pelelehan pada analisis HRM. Pendekatan ini diharapkan dapat memberikan gambaran mengenai kemampuan HRM dalam mendeteksi variasi nukleotida sebagai metode deteksi awal serta mendukung pengembangan diagnostik molekuler kanker kolorektal yang lebih efisien, terjangkau, dan tetap akurat.

B. Rumusan Masalah

1. Bagaimana karakteristik subjek penelitian kanker kolorektal yang digunakan berdasarkan jenis kelamin, usia, stadium penyakit, dan status metastasis?
2. Bagaimana hasil desain, karakterisasi, dan optimasi primer gen *APC* untuk analisis *High Resolution Melting* (HRM) dan konfirmasi menggunakan sekuensing Sanger?
3. Bagaimana profil kurva *High Resolution Melting* (HRM) gen *Adenomatous Polyposis Coli (APC)* pada sampel jaringan kanker kolorektal?
4. Bagaimana hasil analisis sekuensing Sanger gen *APC* pada sampel jaringan kanker kolorektal yang menunjukkan deviasi profil kurva *High Resolution Melting* (HRM)?

C. Tujuan Penelitian

1. Mendeskripsikan karakteristik subjek penelitian kanker kolorektal berdasarkan jenis kelamin, usia, stadium penyakit, dan status metastasis.
2. Menganalisis hasil desain, karakterisasi, dan optimasi primer gen *APC* untuk analisis *High Resolution Melting* (HRM) dan konfirmasi menggunakan sekuensing Sanger.
3. Menganalisis profil kurva *High Resolution Melting* (HRM) gen *Adenomatous Polyposis Coli (APC)* pada sampel jaringan kanker kolorektal.
4. Menganalisis hasil sekuensing Sanger gen *APC* pada sampel jaringan kanker kolorektal yang menunjukkan deviasi profil kurva *High Resolution Melting* (HRM).

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan memberikan manfaat sebagai berikut:

1. Memberikan kontribusi teoretis dalam pengembangan ilmu biologi molekuler, khususnya terkait pemanfaatan metode *High Resolution Melting* (HRM) sebagai pendekatan deteksi awal dalam deteksi mutasi gen *Adenomatous Polyposis Coli (APC)* pada kanker kolorektal.
2. Menjadi referensi ilmiah bagi penelitian selanjutnya yang berkaitan dengan pengembangan dan penerapan metode HRM dalam analisis mutasi genetik, khususnya pada kanker kolorektal maupun jenis kanker lainnya.