

Genetic Variation Analysis of L1 gene HPV-16 using RFLP in Silico

Santi Afionita^{1*}, Dwi Hilda Putri¹, Afifatul Achyar¹, Elsa Yuniarti¹¹Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang, Padang, Indonesia;

Article History

Received: February 25th, 2025Revised : March 05th, 2025Accepted : March 13th, 2025

*Corresponding Author: **Santi Afionita**, Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang, Padang, Indonesia;
Email: santiafionita@gmail.com

Abstract: Human papillomavirus (HPV) is one of the leading causes of cervical cancer, with the L1 gene playing an important role in vaccine development. This study aims to analyze the genetic variation of the L1 gene of HPV types 16, 18, 52, and 58 using the RFLP method in silico by utilizing restriction enzymes. The results showed that. The pattern of genetic conservation is more dominant in HPV 16 and 52 than other types, indicating the potential important role of the L1 gene in vaccine development. This study confirms the importance of analyzing genetic variation to understand HPV genetic diversity. These results may contribute to the development of more specific vaccines and molecular markers for HPV detection.

Keywords: Genetic variation, HPV, in silico, L1 gene, RFLP.

Pendahuluan

Kanker serviks salah satu penyebab utama kematian pada perempuan di dunia, terutama di negara-negara berkembang (Sung *et al.*, 2021). Menurut data *World Health Organization* (WHO), penyakit ini menempati peringkat kedua sebagai kanker paling umum pada perempuan, dengan angka 660.000 kasus baru dan 350.000 kematian setiap tahunnya. Hal ini menunjukkan pentingnya pengembangan strategi deteksi dini dan pencegahan yang efektif untuk mengurangi beban penyakit ini. Penyebab utama kanker serviks adalah infeksi persisten *Human Papillomavirus* (HPV), virus DNA yang ditularkan melalui kontak seksual (Krakauer *et al.*, 2021).

Human Papillomavirus (HPV) merupakan virus berstruktur ikosahedral yang terdiri atas 72 kapsomer dengan diameter berukuran 55 nm yang termasuk dalam keluarga Papillomaviruses (Baker *et al.*, 1991). Virus ini tidak memiliki envelope dan memiliki genom kecil berbentuk sirkular dengan panjang sekitar 8Kbp (Kayser *et al.*, 2005). Genom HPV mengandung *Open Reading Frame* (ORF) yang terbagi menjadi 3 wilayah. *Early region* (E1-E7) membentuk 45% genom, *Late*

region (L1-L2) membentuk 40% genom dan *Long Control Region* membentuk 15% genom (Lipinwati, 2014). Kemampuan untuk menginfeksi sel epitel skuamosa yang dimiliki HPV menyebabkan transformasi seluler melalui onkoprotein E6 dan E7. Protein ini bekerja dengan menonaktifkan gen penekan tumor seperti p53 dan Rb, yang kemudian memicu proliferasi seluler yang tidak terkendali (Yugawa dan Kiyono, 2009).

Berdasarkan hubungannya dengan kanker serviks, HPV diklasifikasikan menjadi *high risk* (HR-HPV) dan *low risk* (LR-HPV). Sebanyak 12 tipe HR-HPV yang bersifat onkogenik telah ditetapkan yaitu tipe 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, dan 59. Dari semua tipe HR-HPV, tipe 16 dan tipe 18 menyumbang hampir 70% dari semua kanker serviks (Medeiros *et al.*, 2020). Gen L1 mengkode salah satu protein kapsid pada Late Region yang spesifik untuk setiap tipe HPV (Steenbergen *et al.*, 2005). Gen L1 terdapat pada permukaan virus dan berperan penting dalam infeksi virus ke epitel serviks. Gen L1 memiliki variasi sebesar 10%. Variasi ini memungkinkan terdapatnya perbedaan sekuen gen L1 HPV di beberapa kawasan (Safitri *et al.*, 2018). Fadhillah *et al.*, (2015), dalam penelitiannya menyimpulkan bahwa HPV yang

diisolasi dari pasien kanker serviks di Bandung, Indonesia, berada dalam satu subgrup dengan HPV asal Asia dan Asia Timur. Selanjutnya, penelitian yang dilakukan oleh Pradita *et al.*, (2014), menemukan hasil analisis dua amplikon gen L1 HPV 16 isolat Indonesia menunjukkan kesamaan homologi (99% dan 97%) dengan sekuen L1 HPV 16 asal Thailand.

Analisis variasi genetik HPV penting dilakukan karena perannya dalam memahami evolusi virus, menentukan hubungan filogenetik antarstrain, serta mengidentifikasi daerah konservasi yang dapat digunakan dalam pengembangan vaksin dan alat diagnostik (Dunne & Park, 2013). Variasi genetik adalah suatu bentuk perubahan pada nukleotida, gen, kromosom, dan genom pada organisme (Nabilla, 2024). Variasi genetik akan mempengaruhi kemampuan suatu individu untuk bertahan hidup (Densi, 2016). Dalam sebuah populasi, semakin tinggi variasi genetik maka semakin baik kemampuan individunya untuk beradaptasi terhadap perubahan lingkungan yang terjadi (Achyar *et al.*, 2021).

Salah satu metode klasik untuk menganalisis variasi genetik adalah *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP) (Rani *et al.*, 2024). Dengan memanfaatkan enzim restriksi yang mengenali dan memotong DNA pada urutan spesifik, teknik RFLP menghasilkan fragmen DNA dengan panjang yang bervariasi, sehingga dapat digunakan untuk mendeteksi variasi genetik pada tingkat molekuler (Erni & Wathon, 2019). Sebagai penanda molekuler, RFLP bersifat spesifik untuk kombinasi enzim restriksi dan klon tunggal, serta umumnya bersifat kodominan, memungkinkan deteksi kedua alel dalam sampel heterozigot (Mahasri *et al.*, 2014). Pada teknik RFLP, probe DNA berlabel digunakan untuk mengenali dan berikatan dengan fragmen DNA yang telah dipotong dan dipisahkan menggunakan elektroforesis gel, sehingga memungkinkan identifikasi pola spesifik yang mencerminkan genotipe pada lokus tertentu (Nugraha *et al.*, 2014). RFLP telah digunakan dalam berbagai aplikasi, termasuk deteksi variasi genetik, analisis hubungan kekerabatan, spesiasi dan domestikasi, pemetaan genom, penandaan gen, dan pembuatan pustaka cDNA (Dai dan Long

2015).

Analisis variasi genetik dapat dilakukan secara *in silico* dengan memanfaatkan sekuen gen yang tersedia di basis data *GenBank* milik NCBI. Dalam hal ini, metode RFLP dapat disimulasikan secara digital menggunakan perangkat lunak bioinformatika, yang memungkinkan pemotongan DNA oleh enzim restriksi secara virtual. Variasi genetik pada gen L1 dari HPV dapat memengaruhi karakteristik biologis dan epidemiologis virus, serta memengaruhi respons imun tubuh terhadap infeksi HPV (Andre, 2019). Berdasarkan uraian tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi dan mengkaji variasi genetik pada sekuen gen L1 dari HPV tipe 16 melalui pendekatan *in silico* dengan menggunakan metode RFLP.

Bahan dan Metode

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Penelitian Universitas Negeri Padang pada bulan Desember 2024. Data sekuen gen L1 untuk analisis *in silico* diperoleh dari NCBI dalam format FASTA dengan *accession number* KU721789.1; KU721790.1; KU721791.1 (HPV 18), KM058637.1; KM058638.1; KM058636.1 (HPV 16), MT267729.1; GQ472850.1; EU918765 (HPV 52), dan KU721792.1; GQ472848.1; JN874433.1 (HPV 58).

Alignment Sekuen DNA

Sekuen DNA yang sudah diunduh dalam format FASTA sebelumnya dialignment menggunakan *software* ClustalW pada aplikasi MEGA11. Pertama, aplikasi MEGA11 dibuka, dan menu “Align” dipilih pada toolbar utama. Selanjutnya, opsi “Edit/Build Alignment” dipilih dan dilanjutkan dengan opsi “Create a New Alignment” untuk membuka jendela editor *alignment*. Pada jendela tersebut, data sekuen yang akan dianalisis dimasukkan dengan memilih opsi “Insert Sequence from File” pada menu “edit”. Setelah semua sekuen berhasil dimasukkan semua sekuen diblok dan menu “alignment” diklik dan dipilih opsi “Align by ClustalW” untuk memperoleh hasil alignment yang akan digunakan untuk tahap selanjutnya.

Skrining Kandidat Enzim Restriksi

Skrining enzim restriksi yang akan

digunakan pada RFLP *in silico* dilakukan menggunakan situs <http://insilico.ehu.es/restriction/>. Situs ini menyediakan fitur untuk membandingkan pola pemotongan enzim restriksi pada sampel sekuen DNA yang diuji. Tools yang digunakan dalam analisis ini adalah “*compare restriction pattern of many sequences*”. Sekuen DNA yang telah melalui proses alignment kemudian diunggah ke kolom input yang tersedia. Setelah itu, hasil alignment ditampilkan. Jika terdapat sekuen dengan susunan dan panjang yang identik, maka sekuen tersebut akan dihapus untuk menyederhanakan proses analisis. Langkah berikutnya adalah memilih opsi “*only restriction enzymes with known bases (no N, R, Y...)*” untuk memastikan hanya enzim dengan situs pengenalan yang jelas digunakan. Selanjutnya, fitur “*get the list of restriction enzymes*” digunakan untuk mendapatkan daftar enzim restriksi yang sesuai untuk analisis.

RFLP secara in Silico

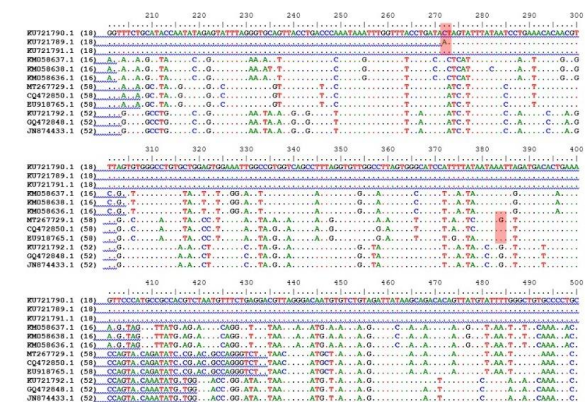
Restriction *Fragment* *Length*
Polymorphism (RFLP) secara *in silico* dapat dilakukan menggunakan *tools* yang tersedia pada situs <https://www.benchling.com/>. Situs ini dapat diakses secara gratis dengan melakukan registrasi akun menggunakan email. Langkah awal dalam analisis ini adalah mengimpor sebanyak 31 sekuen DNA yang sebelumnya telah diunduh dari NCBI ke dalam folder “*project*” pada *platform* Benchling. Setelah itu, ikon bergambar gunting yang terletak di pojok kanan layar diklik untuk membuka fitur pemotongan DNA. Kemudian, *tools* “*find enzyme*” digunakan dengan cara mengetikkan nama enzim restriksi yang telah ditentukan pada tahap skrining sebelumnya. Selanjutnya, menu “*run digest*” dipilih untuk menjalankan proses pemotongan DNA secara virtual. Hasil visualisasi berupa elektrogram dapat diperoleh melalui opsi “*virtual digest*”.

Hasil dan Pembahasan

Alignment sekuen DNA

Proses alignment sekuen DNA diperlukan untuk mengevaluasi tingkat kesamaan (homologi), mengidentifikasi variasi genetik, serta menentukan sekuen yang berpotensi digunakan sebagai penanda (*barcode*) molekuler.

Alignment membantu mengungkapkan daerah konservatif, yakni wilayah yang tidak mengalami perubahan antar genotipe, yang sering kali berperan penting sebagai penanda khas atau *xerotype* (Chenna et al 2003). Mutasi dalam satu tipe memiliki peluang lebih besar untuk menciptakan variasi genetik yang dapat memengaruhi sifat biologis virus (Mirabello *et al.*, 2016). Seperti pada Gambar 1, di posisi 272 terdapat substitusi basa C menjadi A dalam satu tipe HPV pada sekuen KM721789.1. Kemudian, pada posisi 384 juga ditemukan hal yang sama yaitu substitusi basa A menjadi G dalam satu tipe HPV pada sekuen MT267729.1. Hal ini menunjukkan peluang yang lebih besar untuk menghasilkan variasi genetik yang dapat memengaruhi karakteristik biologis atau evolusi virus.



Gambar 1. Alignment sekuen DNA

Skrining Kandidat Enzim Restriksi

Hasil skrining enzim restriksi melalui <http://insilico.ehu.es/restriction/> menunjukkan adanya beberapa situs pengenalan enzim restriksi yang relevan dan dapat digunakan untuk menganalisis variasi genetik pada gen L1 HPV 16. Enzim EcoRI, BamHI, AluI, dan HindIII dipilih karena pola pemotongannya yang spesifik serta ketersediaannya yang luas di laboratorium. EcoRI, dengan sisi pengenalan G'AATTC, memotong DNA pada posisi yang jelas dan teridentifikasi, memungkinkan fragmentasi yang konsisten untuk analisis perbedaan antar sampel. BamHI (G'GATCC) dan HindIII (A'AGCTT) menghasilkan pola fragmen yang beragam namun tetap dapat diinterpretasikan, sehingga ideal untuk mendeteksi variasi genetik. AluI (AG'CT) dipilih karena kesederhanaan pola pemotongannya, memotong hanya pada satu

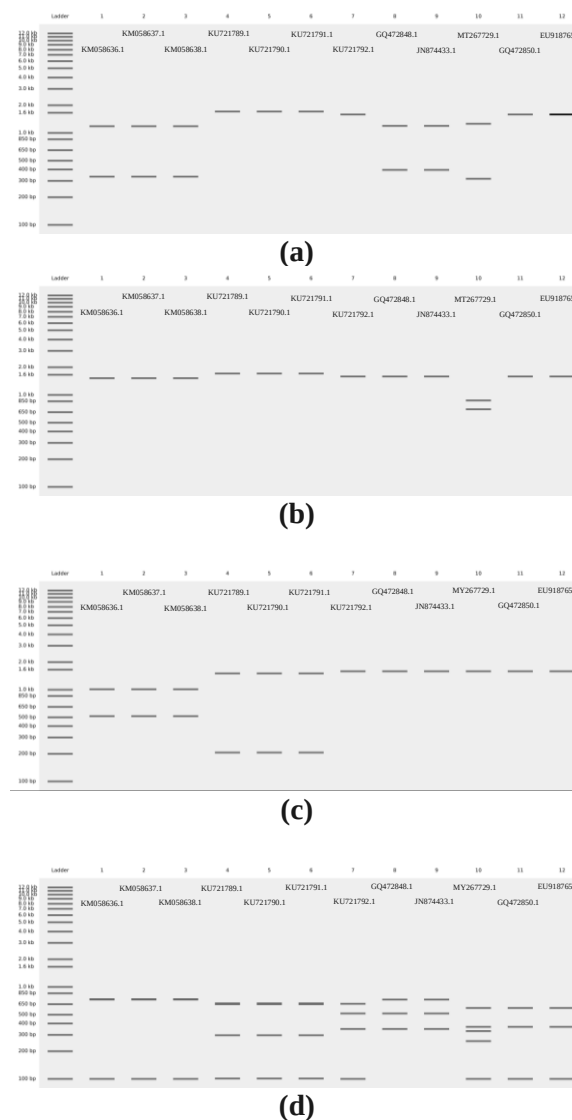
lokasi tertentu, sehingga menghasilkan fragmen DNA yang mudah diidentifikasi dan dibandingkan antar sampel. Kombinasi enzim ini memberikan kemampuan untuk mendeteksi variasi genetik yang lebih luas dengan efisiensi tinggi, sambil memastikan data yang dihasilkan mudah divisualisasikan, terutama dalam aplikasi berbasis gel elektroforesis. Keempat enzim ini adalah pilihan ideal untuk pendekatan RFLP berbasis *in silico* dan laboratorium, baik dari sisi efisiensi maupun ketersediaannya.

Analisis RFLP secara *in silico*

Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) merupakan metode yang secara luas digunakan dalam penentuan genotipe (*genotyping*), yang dilakukan dengan cara memotong sekuens DNA menggunakan enzim restriksi. Fragmen-fragmen DNA yang dihasilkan dari proses ini kemudian dipisahkan melalui elektroforesis dan divisualisasikan menggunakan teknik *Southern Blotting* (Dai & Long, 2015). Gumilar dan Susanti (2021) menyatakan bahwa RFLP juga dapat dimanfaatkan untuk mendeteksi adanya polimorfisme genetik, menelusuri sejarah evolusi populasi manusia, serta mengidentifikasi mutasi genetik. Menurut Schurr (2000), RFLP bekerja dengan memotong urutan DNA pada lokasi spesifik yang dikenali oleh enzim restriksi, sehingga menghasilkan fragmen dengan ukuran yang berbeda-beda. Perbedaan panjang fragmen DNA ini dapat dimanfaatkan sebagai profil identitas genetik individu, yang dikenal sebagai DNA *fingerprint* (Erni dan Wathon, 2019).

Kemajuan teknologi, pemotongan DNA menggunakan enzim restriksi serta visualisasi fragmen hasil restriksi kini dapat dilakukan secara *in silico* melalui perangkat lunak bioinformatika. Pendekatan ini memungkinkan prediksi hasil genotipe sebelum dilakukan analisis RFLP secara *in vitro* di laboratorium. Selain berfungsi sebagai alat prediksi, metode ini juga bermanfaat untuk mengeksplorasi lebih lanjut sekuens DNA yang tersedia dalam basis data seperti GenBank NCBI. Penelitian oleh Wei et al (2007) berhasil mengidentifikasi sepuluh kelompok baru fitoplasma melalui analisis RFLP berbasis simulasi komputer terhadap gen 16S rRNA. Penelitian serupa oleh Nawangsih (2023) juga menunjukkan keberhasilan dalam mengkaji keragaman genetik galur bakteri penyebab busuk

hitam (*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*) pada tanaman kubis, dengan menggunakan gen 16S rRNA sebagai target analisis. Sementara itu, analisis variasi genetik gen L1 HPV 16 secara *in silico* menggunakan empat enzim restriksi (EcoRI, HindIII, BamHI, dan AluI) menghasilkan pola fragmentasi DNA yang bervariasi pada tipe HPV 16, 18, 52, dan 58, sebagaimana ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Hasil elektroforogram dengan enzim restriksi secara *in silico*. (a) Enzim EcoRI; (b) Enzim HindIII; (c) Enzim BamHI; (d) Enzim AluI.

Enzim EcoRI, yang mengenali situs G'AATTC, menghasilkan pola pita spesifik untuk HPV 16 (1,2 kb dan 336 bp) dan HPV 52 (1,2 kb dan 395 bp pada sebagian besar sekuens), sementara HPV 18 dan HPV 58 menunjukkan

variasi pola, seperti pada HPV 58 yang tidak terpotong pada sekuen tertentu (GQ472850 dan EU918765). Hasil ini mencerminkan konservasi situs restriksi EcoRI pada gen L1 untuk HPV 16 dan 52, tetapi juga menunjukkan adanya mutasi atau variasi genetik pada tipe HPV lainnya.

Enzim HindIII, yang mengenali situs A'AGCTT, menunjukkan pola yang lebih konservatif. Tidak ada pemotongan pada gen L1 untuk HPV 16, 18, dan 52 pada semua sekuen, menghasilkan pita utuh sebesar 1,5 kb, 1,7 kb, dan 1,6 kb masing-masing. Namun, HPV 58 menunjukkan variasi dengan fragmentasi pada sekuen MT267729,1 (874 bp dan 701 bp), yang mengindikasikan adanya situs restriksi spesifik pada sekuen ini. Pola ini menggambarkan tingkat mutasi yang lebih rendah pada tipe HPV berisiko tinggi seperti HPV 16 dan 18 dibandingkan dengan tipe lainnya.

Enzim BamHI, dengan situs pengenalan G'GATCC, menghasilkan fragmen pada HPV 16 (1,0 kb dan 514 bp) dan HPV 18 (1,5 kb dan 207 bp), tetapi tidak memotong gen L1 dari HPV 52 dan HPV 58 pada semua sekuen. Hasil ini menunjukkan adanya variasi spesifik di lokasi genetik tempat BamHI bekerja, terutama pada tipe HPV yang berbeda. Pola ini memberikan indikasi bahwa tipe HPV tertentu mungkin memiliki tingkat mutasi lebih tinggi di lokasi ini, yang dapat berdampak pada patogenitasnya.

Enzim AluI, yang mengenali situs AG'CT, menunjukkan tingkat fragmentasi tertinggi dibandingkan dengan enzim lainnya. HPV 16 menghasilkan fragmen kecil (725 bp dan 6 bp), sedangkan HPV 18 menghasilkan tiga fragmen (661 bp, 299 bp, dan 101 bp). Untuk HPV 58, sekuen MT267729 menunjukkan fragmen 654 bp, 513 bp, 347 bp, dan 701 bp, sementara pada sekuen lainnya (EU918765 dan GQ472850), menghasilkan fragmen yang lebih pendek (587 bp, 369 bp, dan 28 bp). Pola fragmentasi kompleks ini menunjukkan tingginya variabilitas genetik pada tipe HPV tertentu, terutama di sekitar situs restriksi AluI.

Enzim-enzim ini dipilih karena situs pengenalanannya yang sering ditemukan pada gen L1 HPV. EcoRI dan HindIII dipilih untuk mengidentifikasi situs konservatif di gen L1, yang berguna untuk membandingkan tingkat variasi antar tipe HPV. BamHI digunakan karena kemampuannya mendeteksi situs mutasi spesifik yang mungkin unik untuk tipe tertentu. AluI,

dengan situs pengenalan yang pendek dan sering muncul, digunakan untuk mengevaluasi fragmentasi pada tingkat resolusi tinggi, membantu mengidentifikasi variasi genetik minor. Pemilihan enzim ini didasarkan pada kebutuhan untuk mengeksplorasi variasi genetik pada tingkat konservasi (untuk mendukung pengembangan vaksin) dan diversitas (untuk membangun filogenetik).

Hasil ini menegaskan bahwa gen L1, terutama pada tipe HPV yang berbeda, memiliki tingkat variasi genetik yang signifikan di lokasi-lokasi tertentu, yang dapat memengaruhi efektivitas vaksin berbasis gen. Penelitian Wang *et al.*, (2021) menggunakan pendekatan RFLP untuk mengkarakterisasi variasi genetik HPV dalam populasi Tiongkok dan menemukan pola pemotongan enzim yang khas untuk beberapa tipe HPV berisiko tinggi. Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa perbedaan dalam pola fragmentasi dapat digunakan untuk mengidentifikasi sub tipe HPV secara lebih spesifik, serupa dengan hasil yang diperoleh dalam penelitian ini.

Penelitian oleh Rader *et al.*, (2019) juga mengungkap bahwa analisis RFLP dapat mengidentifikasi perubahan genetik yang memengaruhi patogenisitas virus, yang berkontribusi pada pengembangan strategi pencegahan kanker serviks. Dibandingkan dengan penelitian ini, perbedaan utama terletak pada penggunaan kombinasi enzim restriksi yang lebih luas dalam studi kami, yang memberikan cakupan lebih komprehensif dalam mendeteksi mutasi spesifik pada gen L1 HPV 16. Lebih lanjut, penelitian oleh Tsakogiannis *et al* (2022) menunjukkan bahwa mutasi pada situs pengenalan enzim tertentu dapat berperan dalam resistensi virus terhadap respons imun inang. Hal ini konsisten dengan temuan dalam penelitian ini.

Variasi dalam pola pemotongan enzim restriksi menunjukkan kemungkinan perubahan pada tingkat evolusi virus. Perbandingan ini memperkuat validitas pendekatan RFLP secara *in silico* sebagai metode yang andal dalam mendeteksi variasi genetik HPV. Studi ini dapat berkontribusi pada identifikasi penanda molekuler spesifik untuk diagnosis atau pengembangan vaksin yang lebih spesifik untuk tipe HPV tertentu.

Kesimpulan

Penelitian ini menunjukkan metode RFLP secara *in silico* efektif untuk mengidentifikasi variasi genetik pada gen L1 HPV tipe 16, 18, 52, dan 58. Hasil analisis menggunakan enzim EcoRI, HindIII, BamHI, dan AluI mengungkapkan pola konservasi tinggi pada tipe HPV 16 dan 52, serta variasi genetik pada tipe HPV 18 dan 58. Enzim AluI menghasilkan fragmentasi paling kompleks, mencerminkan tingginya tingkat variasi genetik. Temuan ini menegaskan pentingnya analisis variasi genetik untuk memahami karakteristik gen L1 pada HPV, baik untuk pengembangan vaksin maupun identifikasi penanda molekuler spesifik.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan penulisan artikel ini.

Referensi

- Achyar A, Hindayageni A, Humaira F, Wijaya NN, Aqsha N, Zultsatunni'mah Z. (2021). "Analysis of Genetic Variations in Poly Gene Sequences in Dengue Virus 2 Using In-Silico RFLP," *Bioscience*, vol. 5, no. 1, pp. 80–86, 2021, DOI: 10.24036/0202151111916-0-00.
- Andre, P. R. (2019). Analisis Variasi Genetik Gen L1 Hpv Tipe 16 Asal Sumatera Barat Dan Translasi Protein Gen L1 Hpv 16 Secara in Silico (*Doctoral Dissertation, Universitas Andalas*).
- Baker, T. S., Newcomb, W. W., Olson, N. H., Cowser, L. M., Olson, C., & Brown, J. C. (1991). Structures of bovine and human papillomaviruses. Analysis by cryoelectron microscopy and three-dimensional image reconstruction. *Biophysical journal*, 60(6), 1445–1456. DOI: 10.1016/S0006-3495(91)82181-6.
- Chenna, R., Sugawara, H., Koike, T., Lopez, R., Gibson, T. J., Higgins, D. G., & Thompson, J. D. (2003). Multiple sequence alignment with the Clustal series of programs. *Nucleic acids research*, 31(13), 3497–3500. DOI: 10.1093/nar/gkg500.
- Dai, S., & Long, Y. (2015). Genotyping analysis using an RFLP assay. *Plant Genotyping: Methods and Protocols*, 91–99. DOI: 10.1007/978-1-4939-1966-6_7
- Densi, S. S. (2016). Analisa Variasi Molekuler Gen E5 Human Papillomavirus (Hpv Dari Isolat Penderita Kanker Serviks (*Doctoral Dissertation, Universitas Andalas*).
- Dunne, E. F., & Park, I. U. (2013). HPV and HPV-associated diseases. *Infectious disease clinics of North America*, 27(4), 765–778. Doi: 10.1016/j.idc.2013.09.001.
- Erni, E., & Wathon, S. (2019). Pengembangan sistem deteksi hpv (Human Papilloma Virus) berbasis marka molekuler pcr-rflp. *Biotrends*, 9(2), 48–55.
- Fadhilah, F. R., Sahiratmadja, E. K., Safitri, R., Maskoen, A. M., & Susanto, H. (2015). Analisis filogenetik gen L1 human papillomavirus 16 pada penderita kanker serviks di Bandung. *Majalah Kedokteran Bandung*, 47(3), 174–178. DOI: 10.15395/mkb.v47n3.598
- Gumilar, G. G., & Susanti, E. S. (2021). Variasi Mutasi Daerah HVI DNA Mitokondria Suku Bima-Dompu Nusa Tenggara Barat. *Chemica Isola*, 1(1), 31–36. Doi: 10.17509/ci.v1i1.33180
- Kayser, F. H., Bienz, K. A., Eckert, J., & Zinkernagel, R. M. (2005). *Medical Microbiology, Thieme Stuttgart*.
- Krakauer, E. L., Kwete, X., Kane, K., Afshan, G., Bazzett-Matabele, L., Bien-Aimé, D. D. R., ... & Fidarova, E. (2021). Cervical cancer-associated suffering: estimating the palliative care needs of a highly vulnerable population. *JCO global oncology*, 7, 862–872. Doi: 10.1200/GO.21.00025.
- Lipinwati. (2014). Diagnosis Molekuler Human Papillomavirus (HPV) penyebab Kanker Serviks. *Jambi Medical Journal*, 2(1), 78–86. Doi: 10.22437/jmj.v2i1.2701.
- Mahasri, G., Wilujeng, L., & Mufasirin, M. (2014). Keragaman Gen Cytochrome B pada Sidat (*Anguilla bicolor*) Berdasarkan Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP). *Jurnal Ilmiah Perikanan Dan Kelautan*, 6(2), 117–124. Doi: 10.20473/jipk.v6i2.11294
- Medeiros, R., Vaz, S. S. G., Rebelo, T., & Figueiredo Dias, M. (2020). Prevention of human papillomavirus infection. *Beyond*

- cervical cancer: a brief review. *Acta medica portuguesa*, 33(3), 198-201. Doi: 10.20344/amp.12259.
- Mirabello, L., Yeager, M., Cullen, M., Boland, J. F., Chen, Z., Wentzensen, N., ... & Schiffman, M. (2016). HPV16 sublineage associations with histology-specific cancer risk using HPV whole-genome sequences in 3200 women. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, 108(9), djw100. Doi: 10.1093/jnci/djw100.
- Nabilla, M. (2024). Analisis Jurnal Variasi Genetik Makhluk Hidup Eukariotik. *Jurnal Multidisiplin Ilmu Akademik*, 1(3), 861-871. Doi: 10.61722/jmia.v1i3.1798.
- Nawangsih, A. A. (2023). Keanekaragaman Karakter Galur-Galur Bakteri Penyebab Busuk Hitam (*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*) pada Kubis terhadap Campuran Bahan Aktif Azoksistrobin dan Difenokonazol. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*, 19(2). Doi: 10.14692/jfi.19.2.45-56.
- Nugraha, F., Roslim, D. I., & Ardilla, Y. P. (2014). Analisis sebagian sekuen gen Ferritin2 pada padi (*Oryza sativa* L.) Indragiri Hilir, Riau. *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education*, 6(2), 70-79. Doi: 10.15294/biosaintifika.v6i2.3102.
- Pradita, A., Sahiratmadja, E., Suhandono, S., & Susanto, H. (2014). Sekuens gen protein kapsid mayor L1 human papilomavirus 16 dari isolat klinik asal Bandung. *Majalah Kedokteran Bandung*, 46(3), 143-149. Doi: 10.15395/mkb.v46n3.317
- Rader, J. S., Tsaih, S. W., Fullin, D., Murray, M. W., Iden, M., Zimmermann, M. T., & Flister, M. J. (2019). Genetic variations in human papillomavirus and cervical cancer outcomes. *International journal of cancer*, 144(9), 2206–2214. Doi: 10.1002/ijc.32038.
- Rani, W. M., Puspita, R. D., Sefina, N., Sa'adah, N., & Achyar, A. (2024). Analisis Variasi Genetik Gen L1 HPV-52 Menggunakan RFLP secara in Silico. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education*, 4(1). Doi: 10.37311/ijpe.v4i1.24496.
- Safitri, T. A., Patty, D. N. J., & Saraswati, H. (2018). Gen L1 HPV 16 dan 18 sebagai dasar dalam desain primer untuk deteksi kanker leher rahim dengan in-house. *Indonesian Journal of Biotechnology and Biodiversity*, 2(2), 67–71. Doi: 10.47007/ijobb.v2i2.5.
- Schurr, T. G. (2000). Mitochondrial DNA and the Peopling of the New World. *American scientist*, 88(3), 246-253.
- Steenbergen, M., de Wilde, J., Wilting, S. M., Brink, A. A. T. P., Snijders, P. J., & Meijer, C. J. L. M. (2005). Human papillomavirus-mediated transformation of the anogenital tract. *Journal of Clinical Virology*, 325, 525–533. Doi: 10.1016/j.jcv.2004.11.019.
- Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray, F. (2021). Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: a cancer journal for clinicians*, 71(3), 209–249. Doi: 10.3322/caac.21660.
- Tsakogiannis, D., Nikolaidis, M., Zagouri, F., Zografos, E., Kottaridi, C., Kyriakopoulou, Z., Tzioga, L., Markoulatos, P., Amoutzias, G. D., & Bletsas, G. (2022). Mutation Profile of HPV16 L1 and L2 Genes in Different Geographic Areas. *Viruses*, 15(1), 141. Doi: 10.3390/v15010141.
- Wang, L., Wang, F., Fu, S., Zhang, C., Zhe, X., Li, H., Li, D., Shao, R., & Pan, Z. (2021). Analysis of genetic variation in human papillomavirus type 16 E1 and E2 in women with cervical infection in Xinjiang, China. *BMC medical genomics*, 14(1), 268. Doi: 10.1186/s12920-021-01120-9.
- Wei, W., Davis, R. E., Lee, I. M., & Zhao, Y. (2007). Computer-simulated RFLP analysis of 16S rRNA genes: identification of ten new phytoplasma groups. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 57(8), 1855-1867.
- WHO (2022) Human Papillomavirus vaccines: *WHO position paper*.
- Yugawa, T., & Kiyono, T. (2009). Molecular mechanisms of cervical carcinogenesis by high-risk human papillomaviruses: novel functions of E6 and E7 oncoproteins. *Reviews in medical virology*, 19(2), 97-113. Doi: 10.1002/rmv.605.