

DETEKSI MUTASI GEN *KRAS* KODON 12 DAN 13 PADA PASIEN KARSINOMA KOLOREKTAL DI KABUPATEN BANYUMAS

ABSTRAK

Mutasi pada gen *KRAS* memiliki peran yang cukup signifikan pada karsinogenesis karsinoma kolorektal, terutama pada kodon 12 dan 13. Metode skrining awal deteksi mutasi gen *KRAS* pada penegakkan diagnosis karsinoma kolorektal belum banyak dikembangkan di Indonesia, khususnya Kabupaten Banyumas. Oleh karena itu diperlukan kajian mengenai deteksi mutasi gen *KRAS* kodon 12 dan 13 untuk mengetahui faktor – faktor penyebab serta penanda karsinoma kolorektal pada tingkat molekuler. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui gambaran mutasi gen *KRAS* pada pasien karsinoma kolorektal di Kabupaten Banyumas. Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif dengan menggunakan sampel yang diambil dari jaringan fiksatif formalin (FFPE) dengan metode *total sampling* sebanyak 43 pasien. Jaringan fiksatif formalin tersebut kemudian dilakukan proses pemurnian atau isolasi DNA lalu dilanjutkan proses amplifikasi menggunakan PCR dengan suhu denaturasi awal 95°C selama 4 menit, diikuti 30 siklus dari 95°C selama 30 detik, *annealing* 60°C selama 30 detik dan amplifikasi 72°C selama 30 detik, kemudian proses ekstensi final pada suhu 72°C dan suhu akhir penyimpanan 4°C. Setelah proses amplifikasi selesai, dilanjutkan dengan visualisasi produk PCR untuk melihat pita DNA menggunakan elektroforesis dengan gel agarose 2%. Hasil pengukuran konsentrasi DNA menggunakan fluorometer diperoleh rerata konsentrasi DNA *stock* senilai 264,95 µg/mL. Hasil visualisasi produk PCR tidak didapatkan pita DNA yang terbentuk. Penelitian profil mutasi gen *KRAS* tidak dapat disimpulkan karena sampel DNA memiliki kualitas yang buruk akibat adanya proses fragmentasi selama proses fiksasi formalin.

Kata kunci: jaringan fiksatif formalin, konsentrasi DNA, *KRAS*, visualisasi produk PCR

DETECTION OF *KRAS* GENE CODONS 12 AND 13 MUTATIONS IN COLORECTAL CANCER PATIENTS OF BANYUMAS REGENCY

ABSTRACT

KRAS gene mutations has a significant role in colorectal cancer carcinogenesis, especially in codons 12 and 13. Early screening method for detection of *KRAS* gene mutations in the diagnosis of colorectal carcinoma has not been widely developed in Indonesia, moreover in Banyumas. Therefore we need a study of it to determine the causative factors and markers of colorectal carcinoma at the molecular level. This study was conducted to describe the *KRAS* gene mutations of colorectal carcinoma patients in Banyumas Regency. It is a descriptive study with 43 patients' samples taken from formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) tissues by using total sampling method. The FFPE was firstly carried out by purification or DNA isolation and then continued by amplification using PCR reaction conditions were as follows: initial denaturation at 95°C for 4 minutes, 30 cycles of 95°C for 30 seconds, annealing at 60°C for 30 seconds, amplification at 72°C for 30 seconds, then followed by final extension at 72°C and the final storage temperature is 4°C. After the amplification process is complete, the process then continued by visualizing PCR products to see the DNA bands using 2% agarose gel electrophoresis. DNA concentration was measured by fluorometer and obtain DNA stock concentration's mean is 264,95 µg/mL. The results of PCR products visualizations does not show any bands of DNA was formed. Research on the profile of the *KRAS* gene mutations cannot be concluded because DNA samples have poor quality due to the fragmentation process during the formalin fixation method.

Keywords: DNA concentration, FFPE, *KRAS*, PCR products visualization