

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kanker merupakan pertumbuhan abnormal dari sel-sel yang disebabkan oleh beberapa perubahan dalam ekspresi gen yang menyebabkan sel tidak seimbang, proliferasi dan mengalami kematian (Nussbaum, 2001).

Kanker dapat berkembang apabila gen-gen normal mengalami mutasi. Mutasi atau kerusakan pada DNA dapat disebabkan oleh beberapa faktor yaitu faktor eksternal dan internal. Faktor eksternal merupakan faktor penyebab kanker yang diakibatkan oleh radiasi, radikal bebas, sinar ultra violet, virus, infeksi, rokok dan bahan kimia dari makanan. Sementara itu, faktor internal merupakan faktor penyebab kanker faktor yang diakibatkan oleh faktor genetik atau bawaan, faktor hormonal, faktor kejiwaan, dan kekebalan tubuh (Utari et al. 2013).

Kanker paru, hati, perut, kolorektal, dan kanker payudara adalah penyebab kematian terbesar di negara berkembang mencapai 69% dalam setahun. Kanker payudara menempati urutan terbanyak kedua sebesar 11,77% setelah servik sebesar 17,70%, penyakit kanker merupakan salah satu penyebab kematian utama di seluruh dunia (Putra et al, 2011). Populasi sel yang abnormal ini dapat mengganggu jaringan dan bermetastasis ke sel atau jaringan lainnya, menyebabkan kesakitan, jika tidak ditangani akan menyebabkan kematian dari *host* (Ruddon, 2007).

Kasus kanker dapat ditemukan karena adanya mutasi dan ekspresi hasil metabolisme patologik yang berlebihan (*over expression*) dari bentuk normal

reseptor faktor pertumbuhan. *Over expression* dari hasil metabolisme yang dihasilkan akan menimbulkan proliferasi jaringan di sekitarnya. Reseptor faktor pertumbuhan yang mengalami *Over expression* dapat ditemukan pada kasus kanker HER2 (Kumar et al, 2005).

Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 (HER2) merupakan anggota *family erbB/HER2* dari reseptor tirosin kinase yang dikode oleh gen HER2. Gen HER2 merupakan protoonkogen yang ditemukan pada kromosom 17 yang berfungsi sebagai reseptor membrane sel. HER2 merupakan suatu reseptor pada permukaan sel yang memiliki struktur sama dengan *Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR)* terletak pada kromosom 17q21 yang mengkode glikoprotein transmembran melalui aktivitas tirosin kinase (Olayioye, 2001). HER2 memiliki hubungan dengan kasus kanker sehingga dapat digunakan sebagai diagnosis penyakit kanker.

HER2 pada diagnosis penyakit kanker dapat diamati melalui suatu penanda biologi atau biomarker. *American Society of Clinical Oncology/Collage of American Pathologis (ASCO/CAP)* menetapkan bahwa teknik yang dapat digunakan untuk pemeriksaan biomarker secara valid adalah *immunohistochemistry (IHC)* dan *fluorescence in situ hybridization (FISH)* (Park et al, 2014). IHC merupakan suatu metode untuk menetapkan dan mendeteksi keberadaan molekul atau berbagai macam komponen yang terdapat di dalam sel atau jaringan dengan menggunakan prinsip reaksi antara antigen dengan antibodi (Unitly et al, 2010).

Teknik pewarnaan imunohistokimia mampu mendeteksi berbagai macam komponen penting di dalam sel sehingga meningkatkan kemajuan ilmu imunologi, histologi, fisiologi dan biokimia (Sohilait, 2010). Proses pengecatan imunohistokimia terdapat *protocol* yang harus dikerjakan salah satunya yaitu inkubasi. Proses inkubasi terdapat inkubasi dengan pemberian antibodi, antibodi yang digunakan dalam pengecatan IHC diproduksi dari hewan yang diinduksi secara khusus dengan antigen tertentu untuk memunculkan respon imun (Dabbs, 2013). Titer antibodi mempunyai hubungan terbalik dengan waktu inkubasi. Titer antibodi yang semakin tinggi, membutuhkan waktu inkubasi yang pendek untuk hasil yang optimal. Konsentrasi yang lebih tinggi dari antibodi spesifik (afinitas yang lebih tinggi) memungkinkan untuk memperpendek waktu inkubasi (Boenich, 2001). Proses inkubasi yang mengalami masalah dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan, salah satunya adalah buruknya intensitas pewarnaan. Inkubasi merupakan salah satu bagian dari protocol HER2 pada proses pengecatan IHC, berdasarkan starr trek HRP detection kit-biocare inkubasi yang digunakan yaitu dengan lama waktu 60 menit pada suhu ruang (25°C).

Bahwa waktu inkubasi mempengaruhi hasil pengecatan imunohistokimia, sehingga penulis ingin meneliti “Variasi Waktu Inkubasi Antibodi Terhadap Pengecatan Imunohistokimia Pada Ekspresi HER2”.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah tersebut, dapat dibuat rumusan masalah yaitu “Bagaimana ekspresi HER2 pada imunohistokimia dengan variasi waktu inkubasi antibodi dan konsentrasi yang berbeda”.

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui ekspresi HER2 pada imunohistokimia dengan variasi waktu inkubasi antibodi primer dan konsentrasi yang berbeda.

1.3.2 Tujuan Khusus

- a. Menganalisis perbedaan hasil pengecatan imunohistokimia terhadap ekspresi HER2 konsentrasi antibodi primer 1:50 dengan waktu inkubasi 30, 60 dan 90 menit.
- b. Menganalisis perbedaan hasil pengecatan imunohistokimia terhadap ekspresi HER2 konsentrasi antibodi primer 1:100 dengan waktu inkubasi 30, 60 dan 90 menit.
- c. Menganalisis perbedaan hasil pengecatan imunohistokimia terhadap ekspresi HER2 konsentrasi antibodi primer 1:150 dengan waktu inkubasi 30, 60 dan 90 menit..
- d. Menganalisis hasil pengecatan imunohistokimia terhadap ekspresi HER2 konsentrasi antibodi primer 1:50, 1:100 dan 1:150 dengan waktu inkubasi 30, 60 dan 90 menit.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi Institusi

Memberikan masukan dan informasi mengenai hasil pengecatan imunohistokimia HER2 terutama mengenai variasi waktu inkubasi dan konsentrasi yang berbeda dalam pengecatan imunohistokimia pada ekspresi HER2.

1.4.2 Bagi Teknisi Laboratorium

Sebagai masukan dan informasi mengenai hasil pengecatan imunohistokimia HER2 mengenai variasi waktu inkubasi dan konsentrasi yang berbeda dalam pengecatan imunohistokimia pada ekspresi HER2.

1.5 Orisinalitas Penelitian

Tabel 1. Orisinalitas penelitian

NO	Nama, Tahun	Judul	Hasil
1	Brandtzaeg, 1981	Effects on Fluorescence Staining of Immunoglobulins and Epithelia Components in Ethanol-and Formaldehyde-fixed Paraffin-embedded Tissues.	Komponen epitel tidak konsisten meningkat dalam jaringan etanol- tetap ketika waktu inkubasi berkepanjangan; produk sekretori seperti laktoferin, lisozim, amilase, dan komponen sekretori (SC) tidak selalu bergerak cukup dengan fiksasi ethanol untuk menghindari difusi artefak dan substansial kerugian dari sitoplasma. Perbedaan intraseluler penyimpanan mungkin berkontribusi pada stabilitas antigen variabel.
2	Masruro, 2016	Pengecatan imunohistokimia HER2 menggunakan susu skim dan normal serum.	Terdapat perbedaan yang signifikan antara <i>normal serum</i> dengan susu skim 1%. Tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara <i>normal serum</i> dengan susu skim 2% dan susu skim 3%. Simpulan adalah <i>normal serum</i> dapat diganti dengan susu skim 2%.
3	Yamashita-Kashima et al, 2014	Importance of Formalin Fixing Condition for HER2 Testing in Gastric Cancer: Immunohistochemical Staining and Fluorescence In Situ Hybridization	Spesimen yang dibiarkan selama 6-24 jam sebelum difiksasi dapat menyebabkan penyusutan sel dan menurunkan intensitas pewarnaan. Intensitas pewarnaan yang dihasilkan saat fiksasi menggunakan 20% NBF, 10% nonbuffered formalin, dan 20% nonbuffered formalin lebih buruk daripada fiksasi dengan 10% NBF. Pada spesimen SCH dan SNU-16, spesimen yang difiksasi selama 24 jam akan mengalami autolisis dan setelah 10 hari dapat menurunkan skor HER2. Lamanya waktu fiksasi tidak mempengaruhi hasil FISH, tetapi jika dibiarkan lebih dari 6 jam sebelum difiksasi, dapat menurunkan skor HER2 pada spesimen SCH.

Persamaan antara penelitian yang penulis lakukan dengan penelitian yang dilakukan oleh Brandtzaeg, Masruro dan Yamashita-Kashima et al terletak pada modifikasi yang dilakukan. Penulis melakukan modifikasi dengan variasi waktu inkubasi 30, 60 dan 90 menit, selanjutnya penulis melihat intensitas pewarnaan yang dihasilkan terhadap ekspresi HER2.

Terdapat perbedaan pada penelitian yang dilakukan oleh penulis, Masruro dan Yamashita-Kashima et al. Penulis melakukan modifikasi variasi waktu inkubasi, Masruro melakukan penelitian dalam proses blocking normal serum dapat diganti dengan menggunakan susu skim sedangkan Yamashita-Kashima et al yaitu melakukan penelitian lama waktu fiksasi yang dapat menyebabkan penyusutan sel dan menurunkan intensitas pewarnaan.

