PERBEDAAN HASIL PENGECATAN *Esterogen Receptor*(ER) SEKRET VAGINA PENDERITA CA CERVIX DENGAN PENGECATAN IMUNOHISTOKIMIA DAN PAPANICOLAOU

Manuscript

Oleh:

Ade Wahyu Triana

G1C014001

PROGRAM STUDI D IV ANALIS KESEHATAN

FAKULTAS ILMU KEPERAWATAN DAN KESEHATAN

UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SEMARANG

2018

http://repository.unimus.ac.id

HALAMAN PERSETUJUAN

Manuscript dengan judul

PERBEDAAN HASIL PENGECATAN *Esterogen Receptor*(ER) SEKRET VAGINA PENDERITA CA CERVIX DENGAN PENGECATAN IMUNOHISTOKIMIA DAN PAPANICOLAOU

Telah diperiksa dan disetujui untuk dipublikasikan

Semarang, Oktober 2018

Pembimbing I

Dra. Sri Sinto Dewi, M.,Si. Med

NIK. 28.6.1026.034

Pembimbing II

Arya Iswara, M.,Si. Med

NIK. 28.6.1026.224

http://repository.unimus.ac.id

PERBEDAAN HASIL PENGECATAN *Esterogen Receptor* (ER) SEKRET VAGINA PENDERITA CA CERVIK DENGAN PENGECATAN IMUNOHISTOKIMIA DAN PAPANICOLAOU

Ade Wahyu Triana[1], Sri Sinto Dewi[2], Arya Iswara[2]

[1] *Program Studi D4 Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan Dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang*
[2] *Departemen Sitohistoteknologi Fakultas Ilmu Keperawatan Dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang*

Info Artikel

Keywords:
Imunohistokimia, Papanicolaou, Sitologi

Abstrak

Pemeriksaan imunohistokimia menggunakan sampel jaringan kanker yang diduga ca cervik. Penelitian ini menggunakan sampel preparat sitologi ca cervix spesimen pap smear, dengan pengecatan imunohistokimia dan papanicolaou. Pemeriksaan imunohistokimia merupakan metode yang menggunakan prinsip antigen dan antibodi sedangkan papanicolaou adalah pewarnaan platikolaou konvensional (PAP). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan hasil pengecatan Esterogen Receptor (ER) imunohistokimia dan papanicolaou pada sampel sekret vagina penderita Ca serviks. Metode penelitian menggunakan eksperimental dengan lima kali pengulangan pada satu pasien. Hasil pengecatan imunohistokimia ER diperoleh gambaran pengecatan pada inti dan sitoplasma yang tidak terwarnai coklat dan pengecatan papanicolaou diperoleh gambaran sel-sel epitel yang terdapat kerusakan pada inti dan sitoplasma yang terwarnai biru, namun pada pengamatan sembilan lapang pandang di peroleh hasil sel-sel yang tidak abnormal dengan skor 0, gambaran sitologi dengan kerusakan inti sel dan sitoplasma yang terwarnai ungu samar dengan skor +1, dan sitoplasma yang melebar dengan kerusakan inti sel yang terwarnai biru dengan skor +2.

*Corresponding Author:
Ade Wahyu Triana
Program Study D IV Analis Kesehatan, Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang Indonesia 50273
E-mail: adewahyutriana.unimus@gmail.com

http://repository.unimus.ac.id

PENDAHULUAN

Kanker adalah salah satu penyakit yang umum ditemukan dan mengakibatkan kematin pada penderitanya bila tidak diterapi. Diagnosa dan perawatan dini sangat penting. Demikian pula identifikasi penderita yang memiliki resiko tinggi untuk terkena kanker (neoplasma) sebelum perkembangan kanker itu sendiri. Kanker ditandai dengan pemebelahan sel yang berlebih dan mampu menyerang jaringan bilogis lainnya,baik dengan pertumbuhan langsung di jaringan yang bersebelahan (*invasi*) atau dengan berpindahnya sel ketempat yang jauh (*metastasis*). Kanker disebabkan adanya perubahan (mutasi) pada gen (Kumalasari 2008). Ca cervik atau kanker leher rahim merupakan salah satu penyakit kanker yang paling banyak terjadi bagi wanita. Setiap satu jam satu wanita meninggal di Indonesia karena ca cerviks atau kanker leher rahim ini bahwa jutaan wanita di dunia terinveksi HPV, yang dianggap penykit hubungan seks yang paling umum dinunia, (Saraswati, 2011). Diagnosik secara sitologi dapat memberikan hasil yang diinginkan dan mendukung suatu diagnosa serta memberikan diagnosa yang sama dengan hasil pemeriksaan secara histopatologi, pemeriksaan teknik sitologi mempunyai beberapa nilai tambahan yaitu lebih cepat, sederhana dan lebih murah jika dibandingkan dengan potong beku (Kamarlis 2009), Alasannya pemeriksaan sitologi sangat efektif dalam mencegah serviks kanker, biasanya pemeriksaan dengan sitologi dilihat adalah ekpresi gen kanker, dan ketepatan gen kanker lebih valid. Kemudian peneliti akan melakukan penelitian dengan membadingkan pemeriksaan sitologi pengecatan imunohistokimia dengan sitologi pengecatan dengan menggunakan papanicolou. Prinsip pengecatan papanicolaou adalah pewarnaan hidrasi dan dehidrasi sel, dimana papanicolou itu adalah pewarnaan platikolaou konvensional (PAP) yang umumnya digunakan dan dilakukan tekniknya yang sangat andal untuk program skrining ca cerviks. Alasannya pemeriksaan sitologi sangat efektif dalam mencegah serviks kanker (Vani 2017).

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan dalam proses pengecatan IHC adalah : *Xylol*,entelan, alkohol (absolut, 96%, 70%), aquades, buffer sitrat, larutas PBS, H_2O_2 3%, antibodi PR Biocare Medical, antibodi sekunder (Trekkie Universal Link), Trek Avidin HRP, kromogen DAB, hematoxylin, Orenge G Soution (OG 6), Polichromatic EA 65, Polichromatic EA 50, xylol tehnis dan hematoksilin.

PERSIAPAN SAMPEL

Sekret diambil dengan mengapus permukaan mukosa kanalis endoserviks dan daerah *squamus-columnar junction*, dengan bantuan alat pengambilan bahan sediaan endoservikal. Masukkan alat *cytobrush* kedalam kanalis endoserviks sedalam 1 atau 2 cm dari orifisium uteri eksternum, putarlah secara melingkar 360 derajat untuk menghapus permukaan mukosa endoserviks dan daerah *squamus-columnar junction*, ulaskan sekret yang didapat pada kaca objek secukupnya, sediaan prepart dikeringkan, kemudian fiksasi dengan alkohol 95% selama 10 – 15 menit, setelah difiksasi dilakukan tahap pengecatan imunohistokimia dan papaniculou.

PROSEDUR PENGECATAN IHC

Preparat sitologi dilakukan redehidrasi dengan alkohol bertingkat (alkohol 100 %, 90%, 70%) selama 5 menit. Sediaan preparat dibilas/rendam dengan air mengalir. Proses Epitop Retrival dilakukan dengan jar yang berisi buffer citrat masukkan kedalam

http://repository.unimus.ac.id

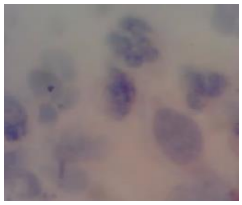
microwave suhu 100 ^{o}C (panaskan dahulu) selama ± 4 menit kemudian masukan slide dan lanjutkan suhu 90 ^{o}C – high selama 20 menit, dinginkan di suhu ruang selama ± 40 – 60 menit, bilas/ rendam dengan air selama 2 menit, Tandai sekitar jaringan dengan Novopen), lakukan peroxidase block reagen selama 5 menit, cuci dengan PBS selama 5 menit. selanjutnya adalah dilakukan inkubasi *Primary Antibody* (150 µ) selama 60 menit menggunakan antibodi *Estrogen Receptor* (inkubasi sebaiknya disuhu 25 ^{o}C bilas dengan PBS sebanyak 2x masing – masing 5 menit, Post Primary selama 30 menit. Sediaan kembali dibilas dengan PBS sebanyak 2x masing – masing 5 menit, inkubasi dengan DAB perbandingan 1 : 20 selama 5 menit, sediaan dibilas dengan air mengalir sebanyak 2x masing – masing 5 menit. *Counterstain Haematoxylin* selama 5 menit, bilas sediaan dengan aquades sebanyak 2x dengan masing – masing 5 menit, kemudian tambahkan 2 tetes lithium karbonat 5% diamkan selama 2-5 menit , dilakukan mounting, dibaca dengan mikroskop dengan pembesaran 400x objektif dimana skor: 0 Intensitas pewarnaan pada inti nyaris tidak terlihat dari sel yang terwarnai, skor: +1 Intensitas pewarnaan pada inti terlihat samar atau lemah, skor: +2 Intensitas pewarnaan pada inti tampak tidak utuh atau bersifat sedang, skor: +3 Intensitas pada inti tampak menyeluruh atau bersifat kuat.

PROSEDUR PENGECATAN PAPANICOLAOU

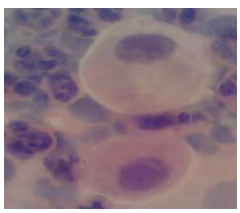
Preparat apus/usapan yang sudah kering difiksasi dengan alkohol 95% selama 10 – 15 menit, Dimasukkan dalam larutan Hematoksilin selama 3 – 5 menit, Dicuci dengan air mengalir, Dimasukkan dalam alkohol bertingkat mulai dari 70%, 80%, 95% masing – masing selama 1 – 2 menit, Dimasukkan dalam OG 6 selama 2 – 3 menit diasukkan dalam alkohol 95% (2 botol) masing – masing selama 1 – 2 menit, Dimasukkan dalam poliochromatic EA 65, Dimasukkan dalam alkohol 95% selama 1 – 2 menit, Dimasukkan dalam xylol selama 1 – 2 menit, Dibersihkan dan diberikan tepi-tepinya dengan kain kassa, Ditetesi dengan canada balsem dan ditutup dengan deck glass, diamati dimikroskop dengan perbesaran awal 40x untuk melihat lapang pandang kemudian dengan perbesaran 100x dengan imersi untuk memperjelas, dimana skor: 0 Tidak ada sel atipic atau abnormal, skor: +1 gambaran sitologi atipical, tetapi tidak ada bukti keganasan, skor +2 gambaran sitologi dicurigai keganasan, displasia ringan sampai sedang, skor +3 gambaran sitologi keganasan dijumpai displasia berat

HASIL PENELITIAN

Gambar 1. Hasil pengecatan immunohistokimia dengan inti dan sitoplasma yang tidak terwarnai coklat (negatif)

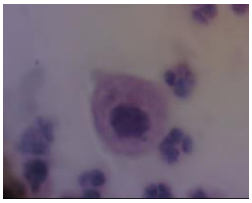


Gambar 2. Hasil pengecatan papanicolou tidak ada sel abnormal



Gambar 3. Gambaran sitologi sel yang terwarnai samar

http://repository.unimus.ac.id



Gambar 4. Gambaran sitologi dengan inti sel yang terwarnai lebih kuat

DISKUSI

Gambaran sel pada pengecatan immunohistokimia dan pengecatan papanicolou menghasilkan perbedaan pada sel-sel yang terdapat pada hasil pengecatan yaitu gambaran sel pada pengecatan Immunohistokimia diperoleh hasil pada inti dan sitoplasma yang tidak terwarnai coklat, sitoplasma tidak melebar, dan tidak mengalami kerusakan sel, sedangkan pada pengecatan papaniculou diperoleh hasil gambaran sel-sel epitel yang abnormal, terdapat kerusakan pada inti sel dan memiliki sitoplasma yang cukup luas. Menurut AJCP (2013) menyatakan bahwa ekspresi ER positif akan tampak pada inti dan sitoplasma sel dengan visualisasi warna cokelat. Pengecatan immunohistokimia pada inti sel dan sitoplasma terlihat dengan warna cokelat apabila sampel positif, sedangkan pengecatan papanicolou diperoleh hasil gambaran sel epitel dan sitoplasma tetapi struktur inti mengalami nekrosis atau kerusakan sel. Berdasarkan penelitian Mastutik (2015) yang menyatakan bahwa gambaran sel pengecatan papanicolou positif akan tampak sel atipic atau abnormal dengan displasia ringan sampai berat, dimana displasia adalah kelainan sel epitel.

Menurut Karmalis (2009) menyatakan bahwa diagnosik secara sitologi dapat memberikan hasil yang diinginkan dan mendukung suatu diagnosa yang sama dengan hasil pemeriksaan secara histopatologi. Pengecatan imunohistokimia merupakan pengecatan menggunakan antibodi spesifik yang berlabel dengan ikatan kimia pada suatu zat untuk membentuk suatu kompleks dengan antigen yang bersangkutan (Sohilait, 2010)

pada beberapa kasus yang kemungkinan dipengaruhi faktor fiksasi. Fiksasi yang terlambat akan memicu hilangnya atau berkurangnya imunoreaktifitas karena difusi antigen dari intraseluler dan terjadi proses autolisis. Autolisis juga menyebabkan ikatan nonspesifik antibodi terhadap determinan antigen yang tidak berhubungan. Dalam hal ini sangat dibutuhkan kerjasama dengan klinisi Aspitriani (2011).

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpilan

Berdasarkan penelitian yang dilakukan didapat kesimpulan bahwa pada pengecatan immunohistokimia ER diperoleh hasil gambaran pengecatan pada inti dan sitoplasma yang tidak terwarnai cokelat karena sampel negatif, sedangkan pada pengecatan papaniculou diperoleh hasil gambaran sel-sel epitel yang terdapat kerusakan pada inti dan sitoplasma yang terwarnai biru kuat namun pada pengamatan menggunakan mikroskop dengan 9 lapang pandang diperoleh hasil yang bervariasi diantaranya terdapat sel-sel yang tidak abnormal (0), gambaran sitologi yang terdapat kerusakan inti sel dan sitoplasma yang terwarnai ungu samar (+1), dan sitoplasma melebar dengan kerusakan inti sel yang terwarnai biru (+2).

SARAN

Setelah dilakukan penelitian terhadap sitologi Ca serviks pengecatan immunohistokimia dan papanicolaou maka disarankan perlu dilakukan penelitian dengan pengecatan immunohistokimia dan papanicolou

http://repository.unimus.ac.id

berdasarkan lama variasi fiksasi, dan menggunakan sampel sitologi.

REFERENSI

AJCP *(American journal of clinical pathologi)* 2013

Aspitriani, M.U., Musa, Z. and Hafy, Z., 2011. Ekspresi Penanda Tumor CEA dan Calretinin pada Adenocarci-noma dan Sel Mesotel Reaktif dari Cairan Pleura. *Majalah Patologi Indonesia*, *20*(3): 25-31

Kamarlis, R.K., 2009. S(Master's thesis).

Mastutik, G., Alia, R., Rahniayu, A., Kurniasari, N. and Setijo Rahaju, A., 2015. Skrining Ca cerviks dengan Pemeriksaan Pap Smear di Puskesmas Tanah Kali Kedinding Surabaya dan Rumah Sakit Mawadah Mojokerto. *Majalah Obstetri & Ginekologi*, *23*(2), pp.54-60.

Saraswati, L.K., 2011. Pengaruh Promosi Kesehatan Terhadap Pengetahuan Tentang Ca cerviks dan PartisipasiWanita Dalam Deteksi Dini Ca cerviks Surakarta: Universitas Sebelas Maret .

Shohilait. H.J, Pentury. Th, Rupilu.J.A, Banjdar.A , Hutagalung .R. 2010. Konstribusi Sains Untuk Pengmbangan Pendidikan Biodiversitas dan Metigasi Bencana Pada Daerah Kepulauan. Prosedding Seminar Nasional Basic Scince II. 2 juni 2010, Ambon, Indonesia. Hal.14

Vani, T., 2017. The merits of rapid, economic acetic acid, papanicolaou stain (REAP) over papanicolaou stain (PAP) technique in cervical cytology. *International Journal of Research in Medical Sciences*, *5*(8), pp.3334-3339.

Kumalasari, A.R., 2008. Histopatologis Dan Aktivitas Proliferasi Sel Kelenjar Mammae Setelah Pemberian Ekstrak Rimpang Temu Putih Curcuma Zedoaria Pada Tikus Galur Sprague Dawley Yang Diinduksi Dmba *(Dimethylbenz (a) antracene)* (Doctoral dissertation, UNIVERSITAS AIRLANGGA).

http://repository.unimus.ac.id