

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Penyakit kanker merupakan penyakit degeneratif yang mematikan urutan kedua setelah penyakit jantung. WHO melaporkan dari 11 juta kematian tiap tahun, 2,3 juta kematiannya disebabkan oleh kanker (Wulandari, 2008). Dalam dunia kesehatan kanker masih menjadi masalah yang besar. Jumlah penderita tumor/kanker di Indonesia sendiri memiliki sekitar 4,3 per 1000 penduduk. Kanker payudara termasuk kanker yang sering terjadi pada wanita dengan jumlah penderita 26 per seratus ribu (Depkes, 2010). Penderita kanker ditemukan hampir 70% dalam stadium lanjut yang dapat bereproduksi menjadi stadium kronis (Oemiati *et al*, 2011).

Kanker dapat didiagnosis dengan melakukan pengecatan imunohistokimia. Imunohistokimia adalah teknik yang digunakan untuk menemukan keberadaan molekul atau berbagai jenis komponen yang terdapat pada sel-sel jaringan dengan prinsip antigen–antibodi (Apriliyanto, 2017). Pengecatan IHC termasuk rangkaian proses manual kompleks dan biasanya dilakukan oleh petugas yang ahli dan memiliki fokus yang tinggi (Prichard, 2014). Pemeriksaan IHC banyak digunakan dalam dunia kedokteran saat ini untuk menentukan diagnosis penyakit dan menentukan nilai terapi dari biomarker (Walker, 2006). Salah satu pengecatan imunohistokimia adalah Estrogen reseptor (ER). Estrogen memiliki peranan penting dalam perkembangan, diferensiasi dan pada sistem reproduksi (Berry, 2008).

*Estrogen receptor (ER)* merupakan *ligan-activated transkripsion factor* yang tergolong reseptor hormon *superfamili the nuclear* dari molekul reseptor yang dapat mengikat 17  $\beta$ -estradiol. Sampai sekarang terdapat 2 reseptor yang dikenal yaitu ER $\alpha$  dan ER $\beta$ . Kedua reseptor tersebut secara luas ditampilkan dalam jenis jaringan yang berbeda, namun terdapat beberapa perbedaan penting dalam pola ekspresinya. ER $\alpha$  bisa didapatkan pada sel kanker endometrium, payudara, stroma ovarium, dan hipotalamus. Protein ER $\beta$  ekspresinya terdapat dalam ginjal, otak, tulang, jantung, paru-paru, mukosa usus, prostat, dan sel endotel (Susilo, 2012). Ada banyak pelopor aktif yang mempraktikkan patologi IHC, karena menyadari kebutuhan untuk meningkatkan kemampuan IHC pada jaringan formalin fixed, parafin-embedded (FFPE). Sehingga bisa untuk mempertahankan ciri morfologi yang menjadi dasar histopatologi diagnostik (Shi dan Taylor, 2010).

Saat ini antigen retrieval sering diterapkan pada arsip "blok parafin" untuk IHC dalam patologi bedah diagnostik sebagai prosedur rutin. Sejumlah faktor berkontribusi terhadap dampak utama antigen retrieval terhadap patologi diagnostik (Shi dan Taylor, 2010). Proses antigen retrieval bertujuan untuk mengembalikan komponen protein/antigen yang tertutup pada saat proses fiksasi (Dabbs, 2013). Metode antigen retrieval yang digunakan dalam pengecatan IHC adalah metode *Protease-induced epitope retrieval (PIER)* dan metode *heat-induced epitope retrieval (HIER)*. metode HIER memiliki efek yang baik untuk membantu memunculkan kembali epitop atau dalam hal mendeteksi antigen pada preparat yang tertutup pada proses fiksasi. Buffer penyangga yang sering digunakan dalam proses HIER seperti buffer sitrat, biasanya slide preparat

direndam pada larutan tersebut dan dipanaskan dengan suhu dan waktu tertentu yang baik dengan cara di *microwave*, *boiling*, *steamer*, *waterbath*, *incubator* dan sebagainya (Ramos-Vara, 2005). Terdapat beberapa larutan yang bisa digunakan dalam proses antigen retrieval adalah sodium citrat, EDTA, Tris, urea, sukrosa, dan larutan komersial yang disediakan oleh kit (Platero, 2009).

Tris EDTA Buffer adalah campuran antara larutan Tris-HCl dengan EDTA pada konsentrasi tertentu. Tris EDTA Buffer dalam praktikum biologi molekuler berfungsi untuk menstabilkan DNA dan RNA karena pH nya sekitar 8. Karena DNA dan RNA memiliki sifat asam lemah yang dalam waktu lama dapat menyebabkan degradasi DNA/RNA, sehingga dibuatlah TE Buffer tersebut (Fatmawati, 2015).

Berdasarkan uraian di atas, penulis bermaksud mengangkat judul “variasi pH Tris EDTA sebagai antigen retrieval pada pengecatan imunohistokimia Estrogen Reseptor” sebagai bahan penelitian.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang masalah diatas maka dirumuskan masalah penelitian sebagai berikut: apakah ada pengaruh penggunaan Tris EDTA sebagai antigen retrieval pada pengecatan imunohistokimia ER berdasarkan variasi pH.

### **1.3 Tujuan Penelitian**

#### **1.3.1 Tujuan Umum**

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui gambaran hasil pengecatan imunohistokimia Estrogen Reseptor menggunakan Tris EDTA dengan variasi pH sebagai antigen retrieval.

#### **1.3.2 Tujuan Khusus**

- a. Mengetahui gambaran pengecatan Estrogen Reseptor menggunakan Tris EDTA dengan variasi pH 6, 7, 8 dan 9.
- b. Menganalisis variasi pH Tris EDTA yang paling baik dalam pengecatan Estrogen Reseptor.

### **1.4 Manfaat Penelitian**

#### **1.4.1. Bagi Penulis**

Sebagai penambah ilmu pengetahuan khususnya mengenai prosedur pengecatan imunohistokimia ER, khususnya proses antigen retrieval menggunakan Tris EDTA serta hasil pengecatan yang didapat dari proses tersebut.

#### **1.4.2. Bagi Instansi**

Sebagai informasi dan bahan masukan mengenai hasil pengecatan Imunohistokimia ER terutama mengenai buffer penyangga yang dapat digunakan sebagai antigen retrieval.

### 1.4.3. Bagi Masyarakat

Sebagai bahan referensi dan kepustakaan khususnya pada bidang imunohistokimia.

## 1.5 Originalitas Penelitian

Tabel 1. Originalitas Penelitian

No	Nama, Tahun	Judul	Hasil
1.	Setyawan, 2016	Eksresi syndecan-1, matriks metalloproteinase-2 dan il-1 $\alpha$ Pada ameloblastoma multistik	Dengan memakai tahapan pengecatan penggunaan antigen retrieval dengan Tris EDTA pH 9 suhu 90 <sup>0</sup> waktu 40 menit. Didapatkan hasil perbedaan pada masing masing ekspresi Syndecan-1, MMP-2, IL-1 $\alpha$ terhadap ameloblastoma tipe folikular, pleksiform, akantomatosa, granular, desmoplastik. Hubungan ekspresi Syndecan-1, MMP-2, IL-1 $\alpha$ pada ameloblastoma tipe folikular, pleksiformis, dan akantomatosa, menunjukkan bahwa tipe folikular dan akantomatosa lebih tinggi dibandingkan pleksiformis.
2.	Susilo, 2012	Eksresi protein ER (Estrogen receptor) pada kanker payudara derajat Keganasan baik, sedang dan buruk	Pada risiko kelompok penderita histopatologi derajat keganasan sedang pada imunohistokimia ER negative lebih besar dari pada kelompok dengan hasil imunohistokimia ER positif. Dan pada risiko kelompok penderita histopatologi derajat keganasan buruk pada imunohistokimia ER positif lebih besar dari pada kelompok dengan hasil imunohistokimia ER negative. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa paling banyak ekspresi ER positif pada derajat keganasan baik, sedangkan paling sedikit ialah derajat buruk.

Berdasarkan data Originalitas Penelitian di atas, dapat dilihat perbedaan penelitian yang akan dilakukan dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Penelitian Setyawan dkk melakukan penelitian modifikasi perbedaan pada masing masing ekspresi Syndecan-1, MMP-2, IL-1 $\alpha$  dengan menggunakan pengecatan IHC dengan *antigen retrieval* Tris EDTA pH 9. Begitu pula dengan Susilo melakukan penelitian perbandingan pengaruh derajat keganasan sedang dan derajat keganasan buruk kanker payudara, yang digunakan untuk mengetahui intensitas pewarnaan IHC pada ekspresi ER. Sedangkan penelitian penulis melakukan penelitian pada proses *antigen retrieval* menggunakan Tris EDTA, selanjutnya penulis melihat intensitas pewarnaan yang dihasilkan terhadap ekspresi ER.

