

Pengecatan Kanker Payudara HER2 dengan Ampas Tahu sebagai Protein Blocking Metode IHC

Alfian La Ode Sadiq¹, Galuh Dwi Mustika Rahmasari¹, Ragil Zaenuri¹, Arya Iswara^{2*}

¹Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang

² Departemen Sitohistoteknologi Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang

*Email: aryaiswara@unimus.ac.id

Abstrak

Keywords:

Immunohistokimia;
HER2; ampas tahu;
normal serum;
protein blocking

Ekspresi HER2 pada kasus kanker dapat dilihat dengan suatu penanda biologi atau biomarker. Teknik yang biasa digunakan di Indonesia untuk mendeteksi ekspresi HER2 yaitu Immunohistochemistry (IHC). Hingga saat ini pengecatan IHC masih menggunakan normal serum sebagai protein blocking karena tidak terlibat dalam reaksi imunologi dan berfungsi menghalangi ikatan non spesifik pada jaringan. Namun penggunaan normal serum cenderung lebih mahal dan sulit didapat karena tidak dijual bebas. Sehingga dibutuhkan protein blocking yang lebih murah dan mudah didapat yaitu protein solution, salah satunya adalah cairan dari ampas tahu. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui gambaran hasil pengecatan IHC HER2 pada kanker payudara menggunakan cairan ampas tahu konsentrasi 10% dan 30% dengan normal serum sebagai kontrol. Metode penelitian ini menggunakan desain eskperimental dengan pendekatan cross sectional dan Strep (Avidin) Biotin Complex digunakan sebagai teknik dalam pengecatan IHC HER2. Hasil pengecatan menggunakan normal serum didapat hasil +2, cairan ampas tahu 10% didapat hasil +3 sedangkan cairan ampas tahu 30% didapat hasil +2. Cairan ampas tahu 30% dapat menggantikan normal serum.

1. PENDAHULUAN

Kasus kanker ditemukan karena adanya mutasi dan ekspresi hasil metabolisme patologik yang berlebih (over ekspresi) dari bentuk normal reseptor faktor pertumbuhan (Iswara et al., 2017). Human Epidermal Growth Factor Receptor-2 (HER2) adalah penanda reseptor yang diekspresikan secara berlebih oleh sel kanker (Mota et al., 2017). HER2 secara rutin diekspresikan dalam kasus kanker payudara (Badve et al., 2008; dan Brown et al., 2008). Keberadaan sel kanker dapat dilihat dengan suatu biomarker. Menurut American Society of

Clinical Oncology/Collage of American Pathologis (ASCO/CAP) bahwa teknik yang dapat digunakan untuk pemeriksaan biomarker secara valid salah satunya yaitu immunohystochemistry (IHC) dan fluorescence in situ hybridization (FISH) (Park et al., 2014).

Metode yang biasa digunakan di Indonesia untuk mendeteksi keberadaan HER2 yaitu IHC (Mukti et al., 2016). IHC saat ini merupakan metode standar untuk menentukan status biomarker (Hakim et al., 2018). Sebagian besar ahli patologi menggunakan metode IHC karena secara khusus memvisualisasikan distribusi dan jumlah molekul tertentu dalam jaringan

menggunakan reaksi antigen-antibodi spesifik (Kim *et al.*, 2016).

Kesalahan yang bisa terjadi dalam proses pengecatan IHC yaitu kualitas warna *background staining* yang buruk akibat kurangnya penggunaan *blocking agent* pada tahap *protein blocking*. Bahan yang dapat digunakan sebagai *blocking agent* yaitu normal serum, *protein solution*, dan *commercial mixes*. Saat ini normal serum masih sering digunakan karena mengandung protein 5 – 10% dari spesies antibodi sekunder yang sama untuk mengurangi warna latar belakang yang tidak diinginkan (Kim *et al.*, 2016). Namun penggunaan normal serum membutuhkan biaya yang mahal sehingga diperlukan *blocking agent* yang lebih murah dan keberadaannya mudah didapat yaitu *protein solution* salah satunya ampas tahu.

Menurut Ridhoresmi (2012) ampas tahu memiliki kandungan protein yang cukup tinggi. Protein yang terkandung sebanyak 26,6 gram per 100 gram bahan atau sekitar 23,55%. Kandungan protein yang tinggi pada ampas tahu dapat

menjadikannya sebagai kandidat *blocking agent* yang murah dan mudah didapat.

2. METODE

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang. Bahan yang digunakan berupa ampas tahu yang diambil cairannya dan dibuat konsentrasi 10% dan 30% sebagai perlakuan dan kontrol normal serum. Sampel kanker payudara HER2 yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari salah satu rumah sakit di Kota Semarang yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. (Strep) Avidin Biotin Complex digunakan sebagai metode dalam pengecatan IHC. Pengamatan hasil pengecatan dilakukan secara visual menggunakan mikroskop perbesaran 100x objektif dan penilaian ekspresi HER2 hasil pengecatan IHC mengacu pada ASCO/CAP HER2 *Test Guidelines Recommendation* 2013 pada Tabel 1.

Tabel 1. Interpretasi hasil pengecatan

Skor	Penilaian
0	Intensitas pewarnaan pada membran nyaris tidak terlihat dari sel yang terwarnai
+1	Intensitas pada pewarnaan pada membran terlihat samar
+2	Intensitas pada pewarnaan pada membran tampak tidak menyeluruh (utuh), bersifat lemah atau sedang
+3	Intensitas pewarnaan pada membran tampak menyeluruh (utuh) atau bersifat kuat

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

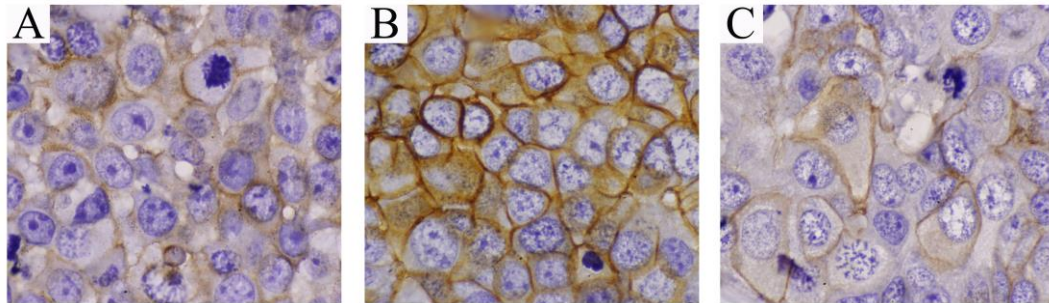
Penelitian tentang pengecatan IHC HER2 menggunakan normal serum dan ampas tahu 10%, 20%, 30%, 40% terhadap 5 sediaan untuk setiap perlakuan. Blok parafin jaringan kanker dipotong menjadi 15 sediaan untuk 5 perlakuan, setiap perlakuan 3 sediaan. Hasil pengecatan dapat dilihat pada Gambar 1. Pewarnaan terhadap HER2 pada sel yang terdapat di jaringan kanker dinilai berdasarkan intensitas warnanya terhadap 5 sediaan dapat dilihat pada Tabel 2.

Berdasarkan hasil yang ditunjukkan bahwa normal serum dapat digantikan oleh cairan ampas tahu konsentrasi 30% karena dapat menghalangi ikatan-ikatan nonspefik pada jaringan. Antibodi primer bersifat spesifik hanya akan berikatan dengan antigen tertentu, namun antibodi sekunder bersifat universal yang dapat berikatan dengan antibodi primer dan protein nonspesifik pada jaringan. Konsentrasi protein yang rendah pada cairan ampas tahu 10% tidak mampu menghalangi ikatan nonspesifik sehingga memungkinkan antibodi sekunder untuk

berikatan dengan antigen nonspesifik menjadi tinggi (Irawan, 2013).

Jenis *blocking agent* tidak mempengaruhi intensitas warna background staining, namun jumlah protein dalam *blocking agent* yang digunakan untuk menghalangi ikatan non

spesifik. Cairan ampas tahu 30% memiliki konsentrasi protein yang lebih tinggi dari pada konsentrasi 10% sehingga memungkinkan protein nonspesifik dapat menghalangi untuk dapat berikatan dengan antibodi sekunder (Iswara et al., 2017).



Gambar 1. Pengecatan IHC kanker payudara HER2 positif 2 pada perbesaran 1000x. (A) normal serum, (B) Ampas tahu 10%, (C) Ampas tahu 30%

Tabel 2. Hasil penilaian hasil pengecatan IHC terhadap ekspresi HER2

Jenis blocking agent	Penilaian ekspresi HER2		
	1	2	3
Normal serum	+2	+2	+2
Ampas tahu 10%	+3	+3	+3
Ampas tahu 30%	+2	+2	+2

4. KESIMPULAN

Hasil pengecatan IHC HER2 menggunakan normal serum didapatkan hasil +2, cairan ampas tahu 10% didapatkan hasil +3, ampas tahu 30% didapatkan hasil +2. Hasil pembacaan intensitas pewarnaan HER2 menggunakan cairan ampas tahu 10% dengan normal serum, cairan ampas tahu 30%. Tidak terdapat perbedaan hasil pewarnaan HER2 antara normal serum dengan cairan ampas tahu 30%. Cairan ampas tahu 30% dapat menggantikan normal serum.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada Kemenristekdikti atas pendanaan terhadap penelitian ini, pihak rumah sakit penyedia sampel, Laboratorium Biologi Molekuler, kepada para laboran, dan dosen pembimbing yang telah ikut serta melancarkan penelitian ini.

REFERENSI

- [1] Badve S.S, Baehner, F.L, Gray, R.P. Estrogen and Progesterone-Receptor Status in ECOG 2197: Comparison of Immunohistochemistry by Local and Central Laboratories and Quantitative Reverse Transcription polymerase Chain Reaction by Central Laboratory. *Journal of Clinical Oncology*. 2008; 26(15):2473-2481.
- [2] Brown, M., Tsodikov, A., Bauer, K.R., Parise, Caggiano, V. 2008. The Role of human Epidermal Growth Factor Receptor 2 in The Survival of Women with Esterogen and Progesterone Receptor-Negative. Invasive Breast Cancer: The California Cancer. 112(4):737-747.
- [3] Hakim A, Widyanti S, Alfianto, U. Hubungan antara Obesitas dengan Reseptor Hormonal (Reseptor Estrogen dan Progesteron) dan

- Ekspresi HER 2/NEU pada Pasien Kanker Payudara di RS X Surakarta. *Jurnal Biomedika*. 2018; 10(1):30-34.
- [4] Iswara A, Dewi S.S, Masruro Y.A. Pengecatan Immunohistokimia HER2 Menggunakan Susu Skim dan Normal Serum. *Jurnal Biomedika*. 2017; 10(1):52-55.
- [5] Kim S.W, Roh J, Park C.S. Immunohistochemistry for Pathologists: Protocols, Pitfalls, and Tips. *Journal of Pathology and Translational Medicine*. 2016; 50(6):411-418.
- [6] Mota A.D.L, Evangelistas A.F, Macedo T, Neto C.S, Viera R.A.D.C, Marques, M.M.C. Molecular characterization of breast cancer cell lines by clinical immunohistochemical markers. *Oncology Letters*. 2017; 13(6):4708-4712.
- [7] Mukti A.F.R, Bekti R.S, Roebijoso, J. Korelasi Pemeriksaan Human Epidermal Growth Factor Receptor-2 (Her-2) dengan Stadium Klinis TNM pada Pasien Kanker Payudara di Instalasi Patologi Anatomi RS dr. Saiful Anwar Periode Januari 2010-Desember 2012. 2016; 3(3):11
- [8] Park MHM, Ebel JJ, Zhao W, Zynger DC. ER and PR immunohistochemistry and HER2 FISH versus oncotype DX: implication for breast cancer treatment. *The Breast Journal*. 2014; 20(1):37-45.
- [9] Yildirim S, Dandin O, Durmus M, Karapinar U, Aslan M, Gokce M. C-erBb2 (HER2/neu) Expression rate and Its Association with Clinicopathologic Parameters in Gastric Cancer. *UHOD International Journal of Hematology and Oncology*. 2012; 22(3):156-62.
- [10] Ridhoresmi, D. 2012. Pengaruh Substitusi Tepung Ampas Tahu terhadap Kadar Protein dan Daya Terima Brownies Kukus. Karya Tulis Ilmiah. Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta.
- [11] Irawan, Vidya. IHC part 3: Normal Serum dan Imunofluoresence. 2015. [dikutip 2019 Juni 6]. Tersedia dari: <http://vetsciencereview.blogspot.co.id/2015/11/ihc-part-3-normal-serumdan.html>.