



TINGKAT KEGANASAN KANKER SERVIKS PASIEN PRA-RADIASI MELALUI PEMERIKSAAN AgNORs, MIB-1 DAN Cas- 3

MALIGNANCY LEVEL OF CERVICAL CANCER OF PRE-RADIATION PATIENTS THROUGH THE EXAMINATION OF AgNORs, MIB-1 AND Cas- 3

✉ **Iin Kurnia¹, Siti Harnina Bintari, Mafaza Khaisuntaha²**

¹Peneliti Bidang Biomedika PTKMR BATAN Jakarta

²Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang, Indonesia

Info Artikel

Sejarah Artikel:
Diterima April 2012
Disetujui Juli 2012
Dipublikasikan September 2012

Keywords:

AgNORs; apoptotic; cervix cancer; MIB-1

Abstrak

Kanker serviks sering ditemukan di negara berkembang. Pengobatan kanker melalui radioterapi untuk mengetahui tingkat proliferasi dan mengurangi tingkat keganasan. Biomarker proliferasi dan apoptosis berupa AgNORs, MIB-1, dan Caspase 3. Namun belum dijelaskan mengenai korelasi ketiga biomarker dalam kaitannya dengan proliferasi dan apoptosis pada sel kanker serviks. Tujuan penelitian untuk mengetahui korelasi antara AgNORs, MIB-1, dan apoptosis pada kanker serviks. Penelitian observasional laboratorium menggunakan metode pewarnaan dengan menekankan kontras warna antara sitoplasma dan inti sel. Objek berupa sediaan mikroskopis dari 30 biopsi pasien kanker serviks. Pengambilan data dengan metode crocker dan blind manner. Analisis data menggunakan uji korelasi, dari jumlah 21 pasien yang diamati menunjukkan. AgNORs dan MIB-1 memiliki angka relatif tinggi. Angka yang diperoleh ini berbanding terbalik dengan apoptosis yang relatif rendah. Korelasi antara AgNORs dengan MIB-1 menunjukkan $r = 0,33$ dan $p = 0,15$. AgNORs dengan apoptosis memiliki korelasi negatif yakni, $r = -0,08$ dan $p = 0,73$. MIB-1 dengan apoptosis memiliki korelasi negatif pula $r = -0,18$ dan $p = 0,43$. Kesimpulannya korelasi AgNORs dengan apoptosis memiliki kecenderungan lebih baik dari pada MIB-1 dengan apoptosis.

Abstract

Cervical cancer is often found in the developing countries. The treatment of cancer through radiotherapy was performed to determine the proliferation level and to reduce the malignancy level of cancer. The proliferation and apoptotic biomarkers were AgNORs, MIB-1, and Cas- 3. However, the correlation between the three biomarkers in relation to the proliferation and apoptosis in cervical cancer cells was not clear. The purpose of the study was to determine the correlation between AgNORs, MIB-1 and apoptosis in cervical cancer. This study was an observational research laboratory using a staining method to emphasize the color contrast between the cytoplasm and the nucleus of the cells. The microscopic preparations of the 30 patients with cervical cancer biopsies had been used as the study objects. Data was collected using the Crocker and Blind method and was then analyzed using correlation test. Data from 21 patients with AgNORs and MIB-1 showed a relatively high value. The figure obtained was inverse proportionally to the relatively low apoptotic value. The correlation between AgNORs and MIB-1 showed $r = 0.33$ and $p = 0.15$. There was negative correlation between AgNORs and apoptosis at $r = -0.08$ and $p = 0.73$. Meanwhile, between MIB-1 and apoptosis has also a negative correlation at $r = -0.18$ and $p = 0.43$. It was concluded that the correlation between AgNORs and apoptosis tended to be better than the MIB-1 and apoptosis.

2012 Universitas Negeri Semarang

✉ Alamat korespondensi:

FMIPA UNNES Gd D6 Lt 1 Jln. Raya Sekaran- Gunungpati- Semarang 50229
Telp./Fax. (024) 8508033; E mail : ninabintari@yahoo.com

ISSN 2085-191X

PENDAHULUAN

Karsinoma serviks squamosa (kanker serviks) merupakan tumor ganas pertama dengan frekuensi tinggi ditemukan di negara berkembang. Penderita biasanya datang sudah dalam kondisi stadium lanjut sehingga diperlukan pengobatan menggunakan radiasi/radioterapi eksterna atau intrakaviter (Marcial & Marcial, 1993). Salah satu faktor yang berpengaruh terhadap keberhasilan pengobatan radioterapi, ada-lah radiosensitivitas sel tumor di mana hal ini berkaitan dengan tingkat proliferasi sel, tipe jaringan dan derajat diferensiasi sel. Parameter yang biasa digunakan untuk menilai respon radiasi adalah hasil histopatologi yakni penilaian berdasarkan pada morfologi sel yang ada dan secara klinis masih hidup (*viable*). Namun dari hasil pemeriksaan menggunakan metode ini banyak dijumpai kelemahan oleh karena kajian yang dilakukan belum melalui pendekatan biomolekuler menggunakan marker kanker.

Pemeriksaan kanker termasuk kanker servik saat ini banyak dilakukan dengan mengamati proliferasi dan apoptosis sel, di mana proliferasi sel dapat dipelajari secara baik dengan cara menghancurkan jaringan seperti pada metode "*flowsitometri*" atau dengan pelabelan dengan radioisotop penanda Ki-67, PCNA (*Proliferating Cell Nuclear Antigen*) dan teknik pewarnaan semisal teknik AgNORs agar tetap dapat mempertahankan struktur jaringan. Keuntungan mempelajari proliferasi sel tanpa menghancurkan jaringan adalah tetap terpeliharanya hubungan antar sub populasi sel pada jaringan tumor. Sedangkan untuk pemeriksaan apoptosis sel dapat dianalisis dengan teknik pewarnaan menggunakan antibodi monoklonal antara lain Bcl-2, Cathepsin dan Caspase-3.

Proliferasi sel dapat diamati dengan menggunakan teknik pewarnaan AgNORs di mana sebelumnya dilakukan fiksasi jaringan dengan formalin dan disimpan dalam bentuk blok parafin. Metode ini dapat dengan cepat digunakan untuk mengevaluasi morfologi dan kinetika sel hasil biopsi dengan ukuran yang kecil. Marker kanker AgNORs dapat digunakan untuk melakukan pemeriksaan

proliferasi melalui bercak AgNORs yakni daerah inti atau "*Nucleolar Organizer Regions*" (NORs) yakni lengkung DNA ribosom yang ditranskripsikan menjadi RNA ribosomal dengan bantuan RNA polymerase. NORs terletak pada lengan pendek kromosom akrosentrik manusia pada nomor 13, 14, 15, 21 dan 22 serta terlihat secara ultra struktural berasosiasi dengan komponen fibril pada fase interfase. NORs mengandung gen yang membentuk ribosomal 18s dan 28s RNA, yang sangat vital untuk sintesis protein. Protein yang berhubungan dengan NORs ini dapat diikat oleh Ag (perak) dan dapat dilihat dengan pewarnaan AgNORs dalam bentuk bercak didalam inti sel (Derenzini *et al.*, 1990; Derenzini & Ploton, 1991).

Pewarnaan AgNORs sensitif di fase S pada pembelahan sel yang dengan mudah diamati. Pengamatan sejumlah parameter AgNORs (jumlah, ukuran dan distribusi) dapat digunakan dalam patologi sel kanker baik untuk kepentingan diagnostik maupun prognostik. Jumlah, ukuran dan distribusi AgNORs dalam nukleus dapat digunakan untuk mendeteksi dan prognosis sejumlah neoplasia, seperti kandung kemih, karsinoma faring, dan lesi pada kulit (Pich *et al.*, 1995). Sedangkan jumlah dan distribusi AgNORs juga dapat untuk diagnosis yang membedakan antara sel jinak (*benign*) dan ganas (*malignant*) serta untuk prognosis kanker. Walaupun korelasi antara AgNORs dan marker proliferasi lainnya (MIB-1/Ki-67, PCNA, p53) masih diperdebatkan namun sebagian besar peneliti sepakat bahwa jumlah atau ukuran AgNORs berhubungan dengan aktivitas proliferasi sel (Trere *et al.*, 2004).

Proliferasi sel yang menggunakan penanda MIB-1 (Ki-67) dapat dilakukan pada jaringan yang difiksasi dengan formalin dan disimpan dalam bentuk blok parafin serta dengan cepat digunakan untuk mengevaluasi presentase pembelahan sel kanker. MIB-1 (Ki-67) merupakan marker proliferasi berupa antigen yang dapat diamati selama siklus sel kecuali G0 dan awal fase G1. Antigen ini berhubungan dengan antigen inti protein DNA replikasi kompleks yang hampir sama dengan DNA topoisomerase II (Gerdes *et al.*, 1983). MIB-1 terkait dengan persentase sel

kanker yang mengalami pembelahan (*growth factor*). Sel kanker yang persentase pembelahannya tinggi akan memberikan respon lebih baik terhadap radioterapi dibandingkan sel kanker yang persentase pertumbuhannya rendah (Oka et al., 2000).

Sel apoptosis mempunyai bentuk kondensasi kromatin, penyusutan sel (*shrinkage*), fragmentasi nukleus dan dikelilingi oleh cairan yang jernih. Sel apoptosis dapat dideteksi dengan berbagai marker diantaranya menggunakan biomarker Bcl-2, Cathepsin, dan Caspase. Apoptosis adalah proses regulasi kematian sel untuk mengontrol jumlah sel yang berlebihan dan memusnahkan sel yang rusak (Hartono, 2009). Tetapi dalam penelitian sebelumnya menyatakan bahwa biomarker Caspase lebih sensitif terhadap apoptosis sel kanker. Biomarker Caspase juga memiliki kesensitifan yang berbeda-beda dikarenakan biomarker Caspase ada berbagai macam tipe dari tipe 1 sampai 13, dan Caspase yang lebih sensitif adalah Caspase 3 dan Caspase 9. Dalam penelitian sebelumnya, peneliti banyak menggunakan Caspase 3 yang memiliki kesensitifan yang tinggi terhadap apoptosis sel. Biomarker Caspase 3 merupakan marker apoptosis yang bekerja dengan interaksi p53 sebagai indikator dalam proses apoptosis sel yang spesifik pada mitokondria sebagai parameternya (Fan et al., 2005). Dari definisi itulah Caspase 3 merupakan biomarker yang lebih spesifik dalam penandaan dan sensitif terhadap apoptosis sel kanker.

Penilaian menggunakan banyak teknik pewarnaan atau biomarker (penanda) yang mengindikasikan terhadap proliferasi dan apoptosis sel dapat digunakan untuk mengevaluasi pertumbuhan atau pengurangan massa tumor terhadap respon khemoterapi, radioterapi dan akhir-akhir ini dengan terapi hormonal. Dari penilaian ketiga biomarker tersebut, biomarker yang lebih sensitif yang dapat memberikan respon lebih baik terhadap sel kanker. Ditengarai adanya korelasi positif dari ketiga biomarker sehingga dapat dinyatakan bahwa adanya sensitivitas sel kanker serviks terhadap ketiga biomarker atau salah satu dari ketiga biomarker tersebut dengan memiliki standar koefisien korelasi dari -1,0 hingga +1,0. Angka tersebut

merupakan kriteria dari korelasi. Angka antara 0 – 1,0 merupakan koefisien dari korelasi positif, dimana kriteria tersebut berupa kriteria lemah, sedang dan kuat. Kriteria tersebut memiliki angka standar korelasi dari 0 merupakan kriteria tidak adanya korelasi antara dua variabel. Angka 0 – 0,25 merupakan kriteria korelasi sangat lemah yang bersifat sama dengan tidak adanya korelasi. Sedangkan untuk angka > 0,25 – 0,5 merupakan kriteria korelasi cukup/ sedang dan dari angka > 0,5 – 0,75 merupakan kriteria korelasi kuat. Angka > 0,75 – 0,99 merupakan korelasi sangat kuat dan angka 1,0 merupakan korelasi sempurna. Penelitian ini memiliki tujuan mengetahui korelasi dari biomarker pada kanker khususnya kanker serviks.

METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Radiobiologi, Bidang Biomedika Pusat Teknologi Keselamatan dan Metrologi Radiasi (PTKMR) - BATAN Pasar Jum'at Jakarta Selatan.

Subjek penelitian ini adalah Biomarker AgNORs, MIB-1, dan Apoptosis (*Caspase 3*). Objek penelitian ini adalah sediaan mikroskopik sel kanker serviks sebanyak 30 sediaan preparat yang berasal dari 30 biopsi penderita karsinoma *cervic squamosa* (kanker serviks) yang ditangani oleh Departemen Patologi Anatomi FKUI (Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia)/ RSCM (Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo) Jakarta sebanyak 15 sampel biopsi dan RSHS (Rumah Sakit Hasan Sadikin) Bandung sebanyak 15 biopsi.

Penelitian ini merupakan penelitian observasional, desain studi laboratoris dengan hanya menekankan pada proses pewarnaan yang menggunakan marker sebagai parameter penanda untuk mengetahui aktivitas proliferasi dan apoptosis sel kanker. Untuk pengukuran yaitu menggunakan pengukuran secara laboratorik dengan metode pengukuran yang lazim dan sering digunakan dalam penelitian-penelitian yang sama. Pewarnaan dan pengukuran menggunakan preparat kanker serviks yang berasal dari 30 biopsi penderita yang ditangani di RS. Cipto

Mangunkusumo (RSCM) Jakarta dan di RS. Hasan Sadikin (RSHS) Bandung.

Pewarnaan AgNORs dilakukan berupa pemotongan jaringan dengan ketebalan 4 µm, diikuti dengan deparafinasi, rehidrasi dengan alkohol konsentrasi menurun dan diikuti dengan air deionisasi selama 8 – 10 menit. Larutan AgNOR disiapkan dengan melarutkan gelatin 2% dalam air deionisasi pada temperatur 60 – 70°C, di tambahkan asam formiat hingga konsentrasi 1%. Larutan ini dicampur volume 1 : 2 dengan 50% larutan perak nitrat dan disaring dengan millipore 0.22 µ, ditetaskan pada slide dan dibiarkan selama 40 – 45 menit di ruang gelap suhu ruang. Setelah dibilas dengan air deionisasi diinkubasi dalam thiosulfat 5% selama 10 menit, dehidrasi alkohol konsentrasi menaik, penjernihan dengan xilol dan mounting (*slide* ditutup dengan *cover glass*). Pewarnaan MIB-1 dilakukan berupa pemotongan jaringan dengan ketebalan 4 µm, deparafinasi, rehidrasi, air deionisasi dan PBS 15 menit (3 x 5 menit), kemudian jaringan diinkubasi dalam DAKO Retrieval Buffer pH 6 dalam *microwave* 94°C selama 20 menit dan diikuti pendinginan suhu ruang 20 menit dan dicuci dengan PBS 15 menit (3 x 5 menit), block peroxidase 10 menit, PBS 10 menit dan inkubasi dengan MIB-1 (*over night* 4°C), *Labellled Polimer* HRP 60 pada suhu ruang, *counter stain*, dengan Hematoxilin Meyer, dehidrasi, penjernihan dan mounting (*slide* ditutup dengan *cover glass*). Pewarnaan Caspase 3 dilakukan berupa pemotongan jaringan dengan ketebalan 4 µm, deparafinasi, rehidrasi, air deionisasi dan PBS 15 menit (3 x 5 menit), kemudian jaringan diinkubasi dalam DAKO Retrieval Buffer pH 6 dalam *microwave* 94 °C selama 20 menit dan diikuti pendinginan suhu ruang 20 menit dan dicuci dengan PBS 15 menit (3 x 5 menit), block peroxidase 10 menit, PBS 10 menit dan inkubasi dengan MIB-1 (*over night* 4°C), *Labellled Polimer* HRP 60 pada suhu ruang, *counter stain*, dengan Hematoxilin Meyer, dehidrasi, penjernihan dan mounting (*slide* ditutup dengan *cover glass*).

Teknik pengambilan datanya yaitu: (1) *Metode Crocker*, dimana metode ini digunakan pada pewarnaan AgNORs yakni untuk

penghitungan rerata AgNORs, yang dihitung pada 100 sel setiap preparat dengan menggunakan mikroskop cahaya dari perbesaran 10 x 100 (1000x). (2) *Metode secara Blind Manner*, dimana metode ini digunakan pada pewarnaan MIB-1 dan apoptosis yakni penghitungan indeks MIB-1 dan indeks apoptosis, untuk indeks MIB-1 yang dihitung berupa persentase sel yang terekspos positif pada sel karsinoma serviks squamosa (kanker serviks) berbanding dengan minimum jumlah sel yang dihitung sekitar 1000 sel setiap preparat melalui foto mikroskop dengan perbesaran 10 x 100 (1000x).

Analisis data yang digunakan adalah analisis deskriptif dan analisis korelasi. Untuk mengetahui persebaran data dan hubungan data dari ketiga parameter. Analisis diolah dengan menggunakan program komputer SPSS V.16.0.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Data yang diperoleh sebagai parameter penelitian adalah subjek penelitian yang berupa nilai rerata AgNORs, indeks MIB-1, dan indeks apoptosis (Caspase-3). Hal tersebut menunjukkan tingkat proliferasi dan apoptosis sel dengan objek sebanyak 21 sampel yang sebelumnya 30 sampel dikarenakan kurang tepatnya biopsi sehingga sel yang diamati bukan sel kanker, kurang tepatnya dalam penutupan (*Mounting*) sehingga ada yang terbalik penutupannya dan ada gelembung yang menghalangi pandangan saat pengamatan. Data-data parameter tersebut dapat dilihat pada Tabel 1 dan Tabel 2.

Tabel 1 menunjukkan hubungan dari nilai rerata AgNORs, indeks MIB-1 dan indeks apoptosis yang memiliki kemungkinan, jika nilai rerata AgNORs tinggi dengan indeks MIB-1 yang tinggi pula ternyata memiliki kecenderungan indeks apoptosis yang rendah. Hal tersebut teramati pada nomor 8, 14 dan 20.

Tabel 2 menunjukkan jumlah data dari parameter yang sesuai dengan jumlah data valid dalam perolehan nilai dengan penyimpanan data yang cukup rendah dari semua parameter. Terdapatnya nilai mean rerata AgNORs dan indeks MIB-1 yang lebih besar

dibandingkan hasil penelitian oleh Kurnia et al. (2008), menunjukkan nilai mean rerata AgNORs hasil penelitian ini 5,59 lebih besar dari 4,93 dan mean indeks MIB-1 44,15 lebih besar dari 25,55.

Data yang tercantum dalam Tabel 1 dan 2 memiliki arti penting dalam perolehan nilai korelasi dari ketiga parameter dengan adanya signifikansi untuk mengetahui sebe-

rapa besar perbedaan yang ada, terlihat pada Tabel 3.

Tabel 3 menunjukkan koefisien korelasi yang berbeda dari ketiga parameter korelasi. Koefisien korelasi antara AgNORs dan MIB-1 bernilai positif dengan perbedaan signifikansi sebesar 15%. Koefisien korelasi antara AgNORs dan Apoptosis bernilai negatif dengan perbedaan signifikansi yang cukup

Tabel 1. Nilai rerata AgNORs, Indeks MIB-1 dan Indeks Apoptosis (*Caspase 3*) pada preparat biopsi kanker serviks

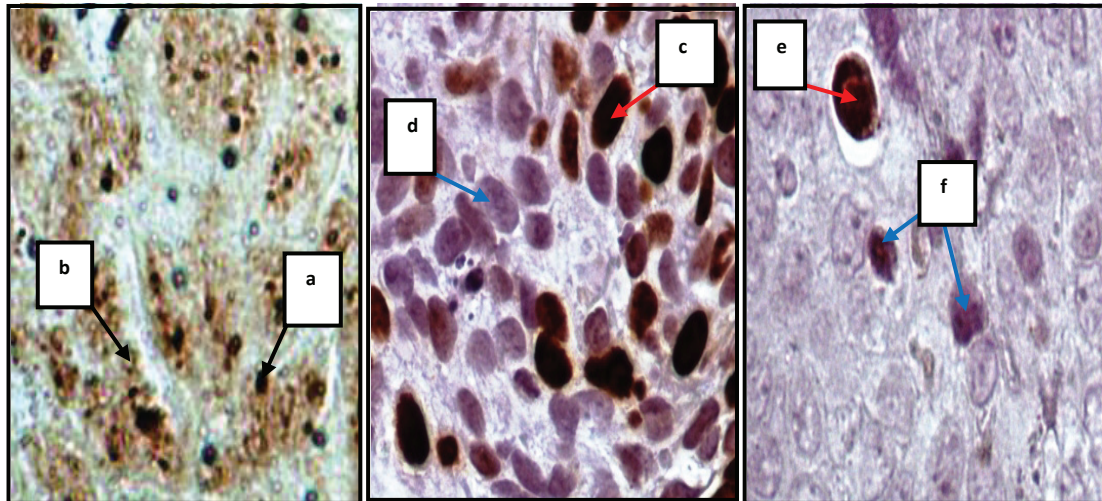
No	AgNORs (sel)	MIB-1	Apoptosis (<i>Caspase 3</i>)
1	5,71	40,22	1,49
2	6,38	43,27	0,50
3	6,46	38,10	0,73
4	5,15	51,03	0,00
5	4,41	30,01	1,41
6	5,03	29,30	2,06
7	5,26	59,00	1,22
8	7,59	66,59	1,50
9	4,24	36,11	0,00
10	5,79	31,47	0,93
11	4,66	21,13	1,28
12	5,24	40,52	0,00
13	4,52	40,63	2,28
14	5,38	68,33	0,76
15	4,76	60,28	0,30
16	6,67	50,09	1,98
17	5,93	31,08	0,75
18	4,77	55,11	1,26
19	5,53	47,11	0,20
20	8,65	51,86	0,32
21	5,22	35,84	2,13

Tabel 2. Statistik deskriptif nilai rerata AgNORs, Indeks MIB-1, dan Indeks Apoptosis (*Caspase 3*) pada preparat biopsi kanker serviks

Parameter	Jumlah	Mean	Std. Deviasi	Varians
AgNORs	21	5,59	1,09	1,18
MIB-1	21	44,15	12,91	166,70
Apoptosis	21	1,01	0,74	0,55
Valid	21			

Tabel 3. Nilai korelasi antara rerata AgNORs, Indeks MIB-1, dan Indeks Apoptosis (Caspase 3) pada preparat biopsi kanker serviks

Parameter korelasi	Nilai Korelasi (r)	Signifikansi (p-value)
AgNORs – MIB-1	0,33	0,15
AgNORs – Apoptosis	-0,08	0,73
MIB-1 – Apoptosis	-0,18	0,43



Gambar 1. Ekspresi AgNORs (A), MIB-1 (B), dan Caspase-3 (C) pada preparat biopsi kanker serviks (original 10x100)

Keterangan :

- a. Noktah AgNORs berukuran besar
- b. Noktah AgNORs berukuran kecil
- c. MIB-1 berekspresi positif
- d. MIB-1 berekspresi negatif
- e. Caspase 3 berekspresi positif apoptosis
- f. Caspase 3 berekspresi negatif apoptosis

tinggi sebesar 73%. MIB-1 dan Apoptosis memiliki koefisien korelasi negatif dengan arah signifikansi sebesar 43%. Hal ini diduga sesuai dengan hasil penelitian dari Kurnia et al. (2008), mengenai korelasi positif antara AgNORs dan MIB-1 sebelum kemoradioterapi pada kanker serviks dengan nilai ($p = 0,0002$ $r = 0,7016$) lebih baik.

Gambar A, merupakan bentuk perolehan salah satu hasil pengamatan dalam satu bidang pandang yang hasilnya digunakan untuk menghitung rerata AgNORs dari adanya AgNORs yang ditandai dengan adanya noktah/bercak hitam. Gambar B, merupakan bentuk perolehan salah satu hasil pengamatan dalam satu bidang pandang yang hasilnya digunakan untuk menghitung indeks MIB-1 dari adanya ekspresi positif

sel dengan ditandai sel pada inti dan sitoplasmanya terwarnai hitam kecoklatan yang terlihat adanya anak panah merah serta sel negatif dengan anak panah biru. Sedangkan Gambar C, merupakan bentuk perolehan salah satu hasil pengamatan dalam satu bidang pandang yang hasilnya digunakan untuk menghitung indeks apoptosis (Caspase 3) terlihat hampir menyerupai (B) tetapi ekspresi positif sel lebih kepada inti sel yang terwarna kecoklatan daripada sitoplasmanya. Hal ini menjadi pembandingan ekspresi positif MIB-1 dan apoptosis (Caspase 3).

Penelitian ini menunjukkan perbedaan secara statistik antara indeks apoptosis (Caspase 3) terhadap nilai rerata AgNORs dan indeks apoptosis (Caspase 3) terhadap indeks MIB-1. Indeks apoptosis (Caspase 3) terhadap

indeks MIB-1 menunjukkan metode lebih baik dibanding indeks apoptosis (*Caspase 3*) terhadap nilai rerata AgNORs, $p = 0,43 < 0,73$. Hasil penelitian menunjukkan data valid yang teramati sebanyak 21 dari 30 sampel yang menjadi objek pengamatan. Hasil statistik menunjukkan bahwa rerata AgNORs dan indeks MIB-1 memiliki angka yang relatif tinggi. Angka ini berbanding terbalik dengan indeks apoptosis yang relatif rendah. Hal ini diduga karena ada jaringan kanker serviks penderita yang belum terkena terapi apapun sehingga proses proliferasi sel masih tinggi dan proses apoptosisnya masih rendah. Selain itu, data juga bersifat acak, hal ini diduga dipengaruhi ada perbedaan kondisi biologis masing-masing penderita kanker serviks.

AgNORs dan MIB-1 merupakan penanda proses proliferasi sel (Kurnia *et al.*, 2010). Pada penelitian ini, rerata AgNORs dengan indeks MIB-1 memiliki korelasi positif dan bermakna ($r = 0,33$, $p = 0,15$). Hal ini berarti, rerata AgNORs searah dengan indeks MIB-1. Penelitian ini menunjukkan korelasi negatif antara rerata AgNORs dengan indeks apoptosis. Secara statistik nilai korelasi sebesar $-0,08$ dengan p -value $0,73$. Berdasarkan hal di atas diketahui bahwa rerata AgNORs mempunyai korelasi terbalik dengan indeks apoptosis. Hal ini ada dugaan jika rerata AgNORs rendah maka indeks apoptosis juga rendah. Ada kesesuaian dengan teori bahwa jumlah AgNORs mengindikasikan penilaian proliferasi sel (Trere *et al.*, 2004), sedangkan jumlah ekspresi Caspase 3 pada indeks apoptosis mengindikasikan penilaian apoptosis sel (Fan *et al.*, 2005). Namun studi sebelumnya menunjukkan adanya korelasi positif dan bermakna antara ekspresi AgNORs dengan apoptosis (Kito *et al.*, 2002). Hal tersebut terjadi karena ekspresi AgNORs terjadi pada fase S (Trere *et al.*, 2004). Sedangkan ekspresi Caspase 3 terjadi pada fase G2 dengan ada keterlibatan dari gen supresor p53. Hal ini membuktikan bahwa tempat ekspresi kedua biomarker tersebut jelas berbeda dan tidak ada hubungan secara langsung satu sama lain. Gen supresor p53 berekspresi maka terjadi proses apoptosis apabila perbaikan DNA yang rusak menga-

lami kegagalan (Fan *et al.*, 2005).

Penelitian ini juga menunjukkan adanya korelasi negatif antara indeks MIB-1 dengan indeks apoptosis. Secara statistik nilai korelasi sebesar $-0,18$ dengan p -value $0,43$. Berdasar hal di atas diketahui bahwa rerata AgNORs mempunyai korelasi terbalik dengan indeks apoptosis. Hal ini ada dugaan jika indeks MIB-1 rendah maka indeks apoptosis juga rendah. Ada kesesuaian dengan teori bahwa jumlah ekspresi Ki-67 setara MIB-1 mengindikasikan penilaian proliferasi sel (Gerdes *et al.*, 1983). Sedangkan jumlah ekspresi Caspase 3 pada indeks apoptosis mengindikasikan penilaian apoptosis sel (Fan *et al.*, 2005). Penelitian sebelumnya di Yunani dan Amerika Serikat mendapatkan adanya hubungan yang kurang signifikan antara antigen Ki-67 terhadap protein Bcl-2 dan caspase-3 pada sel tumor granular (Chrysomali *et al.*, 2003). Hal tersebut terjadi karena ekspresi MIB-1 terjadi disemua fase siklus sel kecuali fase G0 terkait adanya gen Ki-67 (Oka *et al.*, 2000). Gen Ki-67 berperan dalam proliferasi sel dengan ekspresinya terjadi akibat pertumbuhan yang berlebih dari sel kanker (Gerdes *et al.*, 1983). Sedangkan ekspresi Caspase 3 terjadi di fase G2 dengan adanya stimulus dari gen supresor p53 (Fan *et al.*, 2005).

Penelitian ini mendapatkan korelasi yang bervariasi dari ketiga biomarker. Makna korelasi ketiga biomarker dari hasil statistik yang terbentuk yaitu positif dan negatif. Makna positif terwakili korelasi antara rerata AgNORs dengan indeks MIB-1 ($r = 0,33$). Sedangkan kecenderungan makna negatif terwakili korelasi antara indeks AgNORs dengan indeks apoptosis dan indeks MIB-1 dengan indeks apoptosis ($r = -0,08$ dan $r = -0,18$). Hal tersebut memiliki makna lebih lanjut mengenai korelasi rerata AgNORs dengan indeks apoptosis yang lebih baik dari pada indeks MIB-1 dengan indeks apoptosis. Namun jika dilihat dari nilai p -value, MIB-1 memiliki kecenderungan hubungan yang relatif dekat terhadap apoptosis dari pada AgNORs terhadap apoptosis. Ada keterbatasan penelitian mengenai metode yang digunakan untuk mengetahui tingkat proliferasi maupun apoptosis pada sel kanker khususnya

kanker serviks. Penelitian kedepannya diharapkan lebih banyak metode yang dapat digunakan agar hasil lebih optimal dan sesuai dengan teori yang telah ada.

SIMPULAN

Rerata AgNORs dengan indeks MIB-1 memiliki korelasi positif. Rerata AgNORs dengan indeks apoptosis memiliki korelasi negatif sebesar. Indeks MIB-1 dan indeks apoptosis memiliki korelasi negatif sebesar. Korelasi rerata AgNORs dengan indeks apoptosis memiliki kecenderungan lebih baik dari pada indeks MIB-1 dengan indeks apoptosis.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini dibiayai oleh Dana Penelitian PTKMR-BATAN dan telah disetujui oleh Komite Etik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Ucapan terimakasih disampaikan kepada seluruh karyawan di Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Dr. Susilo Widodo kepala PTKMR-BATAN, Drs. Zubaidah Alatas M.Sc. Kepala bidang Biomedika PTKMR-BATAN dan seluruh karyawan PTKMR-BATAN yang telah membantu penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Chrysomali, E., Nikolaos, G. N., Konstantinos, T., John, J. S. & Stavros I. P. (2003). *Immunohistochemical evaluation of cell proliferation antigen Ki-67 and apoptosis-related proteins Bcl-2 and caspase-3 in oral granular cell tumor*. Greece and USA: University of Athens, Greece and University of Maryland, Baltimore, USA.
- Derenzini, M., Pession, A. & Trere, D. (1990). Quantity of nucleolar silver-stained proteins is related to proliferating activity in cancer cell. Italy: Dipartimento di Patologia Sperimentale, Università di Bologna, Italy. *Lab Invest.* Jul, 63(1), 137-40.
- Derenzini, M. & Ploton, D. (1991). Interphase nucleolar organizer regions in cancer cell. Italy: Dipartimento di Patologia Sperimentale, Bologna, Italy. *Int. Rev. Exp. Pathol*, 32, 149-92.
- Fan, T. J., Li, H. H., Ri, S. C. & Jin L. (2005). Caspase Family Proteases and Apoptosis In Minireview. Qingdao: College of Marine Life Sciences, Division of Life Science & Technology and College of Chemistry & Chemical Engineering Ocean University of China. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 37(11), 719–727.
- Gerdes, J., Schwab, U., Lemke, H. & Stein, H. (1983). Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation. *Int J Cancer* , 31(1), 13–20.
- Hartono, N. W. B. (2009). *Pengaruh Alpinia galanga (Lengkuas) terhadap Aktivitas Proliferasi Sel dan Indeks Apoptosis pada Adenokarsinoma Mamma Mencit C3H*. Disertasi. Semarang: Magister Ilmu Biomedik dan Prodi Dokter Spesialis I- Patologi Anatomi FK UNDIP/RSUP Dr. Kariadi Semarang.
- Kito, S., Katsuhide, S., Hirohiko, O., Kaya, Y., Hiroyuki, M., Michi, F., Yasuhiro, M., Takeshi, O. & Tatsuji, H. (2004). *Cleavage of nucleolin and argyrophilic nucleolar organizer region associated proteins in apoptosis-induced cells*. Japan: Kyushu Dental College- Kitakyushu and The University of Tokushima-Tokushima.
- Kurnia, I., Siregar, B., Ramli, I., Andrijono, C. & Badri. (2010). *Hubungan antara Biomarker Proliferasi Sebelum dan Sesudah Radiasi 10 Gy dengan Respon Kemoradioterapi Kanker Serviks*. Seminar Nasional Keselamatan Kesehatan dan Lingkungan VI. Jakarta.
- _____, Budiningsih, S., Andrijono, Irwan, R. & Cholid, B. (2008). *Korelasi Antara Nilai AgNOR dan MIB-1 dengan Respon Radiasi pada Kemoradioterapi Kanker Serviks*. Jakarta: PTKMR-BATAN.
- Marcial, V. A. & Marcial, L. V. (1993). *Radiation Therapy of Cervical Cancer*. Newyork: Supplement Press. Feb.
- Oka, K., Suzuki, Y. & Nakano, T. (2000). High Growth Fraction at 9 Grays of

- radiotherapy is associated with a good prognosis for patients with cervical squamous cell carcinoma. Japan: Division of Radiation Medicine, Research Center of Charged Particle Therapy, National Institute of Radiological Sciences, Chiba. *Int J Cancer*, 89(7), 1526-31.
- Pich, A., Chiusa, L. & Margaria, E. (1995). Role of the argyrophilic nucleolar organizer regions in tumor detection and prognosis. Italy: Department of Biomedical Sciences and Human Oncology, University of Turin. *Cancer. Detect. Prev*, 19(3), 282-291.
- Trere, D., Ceccarelli, C., Montanaro, L., Tosti, E. & Derenzini, M. (2004). Nucleolar Size and Activity Are Related by pRb and p53 Status in Human Breast Cancer. *Journal of Histochemistry and Histochemistry*.