

CARCINOMA

KORELASI EKSPRESI PROTEIN p53 DENGAN DERAJAT DIFERENSIASI DAN STADIUM PADA KARSINOMA KOLOREKTAL

Suatu studi penelitian cross-sectional di RSUD dr. Soetomo Surabaya



PPDS.IB. 38/10

Tre
K



Oleh :

Jusef Treser, dr.

Pembimbing :

Soetanto Wibowo, dr., SpB-KBD

Prof. Dr. Juliati Hood Alsegaff, dr., MS., SpPA(K), FIAC

Troef Soemarno, dr., MS., SpPA(K)

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-I
LABORATORIUM ILMU BEDAH FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA / RUMAH SAKIT UMUM DR.SOETOMO
SURABAYA**

2005

Lembar Pengesahan

**KORELASI EKSPRESI PROTEIN p53 DENGAN DERAJAT
DIFERENSIASI DAN STADIUM PADA KARSINOMA
KOLOREKTAL**

Karya akhir ini telah disetujui dan dipresentasikan

Pada tanggal : 22 Juni 2005

Oleh :

Pembimbing



Soetanto Wibowo, dr., SpB-KBD

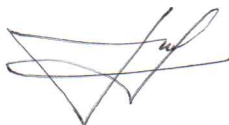
NIP : 130 325 835

Co-Pembimbing



Prof. Dr. Juliati Hood Alsegaff, dr., MS., SpPA(K), FIAC

NIP : 130 517 159



Troef Soemarno, dr., MS., SpPA(K)

NIP : 130 675 538

Mengetahui

Ketua Program Studi Program Pendidikan Dokter Spesialis I

Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga



Prof. Soenarto Reksoprawiro, dr., SpB(K)Onk, FInaCS

NIP : 130 672 015

KORELASI EKSPRESI PROTEIN p53 DENGAN DERAJAT DIFERENSIASI DAN STADIUM PADA KARSINOMA KOLOREKTAL

KARYA TULIS AKHIR PPDS I

Telah disetujui oleh :

Panitia penguji pada tanggal 22 Juni 2005

Memenuhi persyaratan untuk mendapatkan keahlian

Di bidang Ilmu Bedah PPDS I FK UNAIR / RSUD dr. Soetomo Surabaya

Panitia Penguji Karya Akhir

Ketua :

Prof. Soenarto Reksoprawiro, dr., SpB(K)Onk, FInaCS

Anggota :

1. Prof. Dr. Paul Tahalele, FInaCS
2. Prof. Dr. Juliati Hood Alsegaff, dr., MS., SpPA(K), FIAC
3. Soetanto Wibowo, dr., SpB-KBD
4. Harun Al Rasjid, dr., SpB-KBD
5. Troef Soemarno, dr., MS., SpPA(K)

KORELASI EKSPRESI PROTEIN P53 DENGAN DERAJAT DIFERENSIASI DAN STADIUM PADA KARSINOMA KOLOREKTAL

Jusef Treser*, Soetamto Wibowo*, Juliati Hood Alsegaff**, Troef Soemarno**

* Laboratorium Ilmu Bedah FK UNAIR/RSU dr. Soetomo Surabaya

** Laboratorium Ilmu Patologi FK UNAIR/RSU dr. Soetomo Surabaya

ABSTRAK

Latar Belakang : Gen p53 disebut "gate keeper" terhadap pertumbuhan kanker. Mutasi pada p53 ini menyebabkan terjadinya berbagai macam tumor. Pada karsinogenesis karsinoma kolorektal, mutasi pada gen p53 ini menghasilkan mutan p53 yang tidak mampu untuk menghentikan siklus sel atau membawa sel ke dalam apoptosis, sehingga dihasilkan sel-sel baru dengan mutasi genetik yang menetap. Mutan p53 ini dapat dideteksi dengan pemeriksaan imunohistokimia dengan melihat ekspresi protein p53 tersebut. Beberapa penelitian mengatakan *overexpression* p53 berkorelasi dengan buruknya gambaran klinikopatologis dan prognosis serta *survival* penderita karsinoma kolorektal. Akan tetapi hal ini kadang masih menjadi kontroversi bagi peneliti lain.

Tujuan : Untuk mengetahui korelasi antara ekspresi p53 dengan stadium, derajat diferensiasi dan lokasi karsinoma kolorektal.

Metode : Penelitian yang dilakukan adalah analitik cross-sectional. Ekspresi p53 diperiksa dengan menggunakan teknik imunohistokimia. Sampel diambil dari blok parafin jaringan karsinoma kolorektal mulai bulan Agustus 2004 sampai Maret 2005. Data dianalisis dan dilakukan uji statistika korelasi spearman dan korelasi kontigensi dengan tingkat kemaknaan $p < 0,05$.

Hasil : *Overexpression* p53 pada karsinoma kolorektal didapatkan pada 59,26% kasus. Pada *well differentiated*, didapatkan 45% yang menunjukkan *overexpression* p53. Sedangkan pada *moderate differentiated*, 50% *overexpression* p53. *Poorly differentiated* menunjukkan 83,3% *overexpression* p53. Bila dilihat dari stadium, prosentase *overexpression* p53 meningkat seiring dengan tingginya stadium. (stadium I 0%, stadium II 37,5%, stadium III 76,92%, stadium IV 100%). Rektum menunjukkan *overexpression* p53 lebih banyak daripada kolon kiri atau kanan (65,38% vs 50% vs 58,33%).

Kesimpulan : Didapatkan korelasi antara ekspresi p53 dengan stadium karsinoma kolorektal ($p < 0,01$; koefisien korelasi 0,424), begitu juga dengan derajat diferensiasi karsinoma kolorektal ($p < 0,05$, koefisien korelasi 0,338). Tidak didapatkan korelasi antara ekspresi p53 dengan lokasi karsinoma kolorektal ($p < 0,05$).

Kata Kunci : ekspresi p53, derajat diferensiasi, stadium, karsinoma kolorektal

CORRELATION BETWEEN PROTEIN p53 EXPRESSION AND DEGREE OF DIFFERENTIATION, STADIUM ON COLORECTAL CARCINOMA

Jusef Treser*, Soetamto Wibowo*, Juliati Hood Alsegaff**, Troef Soemarno**

* Department of Surgery, Airlangga University–dr.Soetomo General Hospital Surabaya

** Department of Pathology, Airlangga University–dr.Soetomo General Hospital Surabaya

ABSTRACT

Background : p53 gene is a gate keeper of cancer growth. p53 mutation may cause many kind of tumor. At colorectal carcinogenesis, p53 mutation results mutant-p53 that cannot arrest the cell cycle or bring the cell into apoptosis, so it can generate the new cells with permanent genetic mutation. Mutant-p53 can be detected with immunohistochemistry examination by looking the expression of p53 protein. Some researchers said that p53 overexpression correlate with worse clinicopathological pattern, prognosis and the patient survival. On the contrary, this is still controversy for researchers.

Objective : Finding out the correlation between p53 protein expression and degree of differentiation, stadium, location colorectal carcinoma.

Method : This research is analytic cross-sectional. p53 expression is checked by immunohistochemistry technique. Samples is taken from paraffin block colorectal carcinoma, start from August 2004 until March 2005. Data is analyzed and being statistic test with Spearman correlation test and Contingensi correlation test (significant level $< 0,05$)

Result : p53 overexpression is found on 59,26% colorectal carcinoma cases. 45% specimens with p53 overexpression was found on well differentiated group; from moderate differentiated group 50% specimens show p53 overexpression. Poorly differentiated group show 83,3% specimens with p53 overexpression. p53 overexpression percentage increase along with more advanced stadium (stadium I 0%, stadium II 37,5%, stadium III 76,92%, stadium IV 100%). p53 overexpression is more frequent at the rectum than left or right colon (65,38% vs 50% vs 58,33%).

Conclusion : There is positive correlation between p53 expression and stadium colorectal carcinoma ($p < 0,01$; correlation coefficient 0,424), same as with degree of differentiation colorectal carcinoma ($p < 0,05$; correlation coefficient 0,338). No correlation between p53 expression and location of the colorectal carcinoma ($p < 0,05$)

Key words : *p53 protein expression, degree of differentiation, stadium, colorectal carcinoma*

KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas rahmat dan petunjukNya, sehingga kami dapat menyelesaikan penelitian karya akhir yang berjudul : **"Korelasi Ekspresi Protein p53 dengan Derajat Diferensiasi dan Stadium Klinik pada Karsinoma Kolorektal"**, sebagai salah satu persyaratan pendidikan spesialisasi di bidang Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

Besar harapan saya semoga penelitian ini dapat berguna terutama bagi penderita, rumah sakit, dan ilmu pengetahuan. Kami menyadari bahwa penelitian ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu kami sangat mengharapkan kritik dan saran demi penyempurnaan penelitian ini.

Semoga Tuhan Yang Maha Esa selalu melimpahkan Rahmat dan BerkatNya kepada kita semua, Amin.

Surabaya, Juni 2005

Penulis

UCAPAN TERIMA KASIH

Perkenankanlah dalam kesempatan ini kami menyampaikan ucapan terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada berbagai pihak yang telah memberikan bantuan dan dukungan sehingga karya ilmiah ini dapat terselesaikan khususnya kepada :

1. Yth. Prof.Dr. HMS Wiyadi, dr., SpTHT., sebagai Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, yang telah memberikan kesempatan kepada kami untuk mengikuti pendidikan spesialisasi dalam bidang Ilmu Bedah di Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya.
2. Yth. H. Slamet R. Yuwono, dr., DTM & H. MARS., sebagai Direktur Rumah Sakit Umum Dr. Soetomo Surabaya, yang telah memberikan kesempatan kepada kami sehingga dapat bekerja sekaligus menimba ilmu di rumah sakit ini.
3. Yth. Prof. Paul Tahalele, dr., Dr.med., SpB(K)TKV,FinaCs, sebagai Ketua Laboratorium Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga dan sebagai tim penguji karya tulis ilmiah akhir kami ini yang telah memberikan arahan dalam penelitian kami serta tak henti-hentinya memberikan motivasi dan bimbingan selama kami dalam pendidikan.
4. Yth. Prof. Soenarto Reksoprawiro, dr., SpB(K)Onk, sebagai Ketua Program Studi Ilmu Bedah sekaligus sebagai penguji dalam karya tulis ilmiah akhir kami, yang atas segala ketekunan, kesabaran dan ketelitian beliau dalam memberikan arahan dalam penelitian kami serta menanamkan disiplin yang tinggi kepada kami selama menempuh pendidikan.

5. Yth. Soetamto Wibowo, dr., SpB-KBD, sebagai pembimbing pertama, atas segala nasehat, bimbingan dan saran-saran yang diberikan serta waktu yang diluangkan bagi kami dalam penyelesaian karya akhir ini.
6. Yth. Prof.Dr. Juliati Hood Alsegaff, dr.,MS.,SpPA(K),FIAC., sebagai pembimbing kedua dan Kepala Laboratorium Patologi Anatomi FK Unair Surabaya serta guru besar Ilmu Patologi dan konsultan imunohistokimia, atas segala nasehat, bimbingan dan saran-saran yang diberikan serta waktu yang diluangkan bagi kami dalam penyelesaian karya akhir ini.
7. Yth.Troef Soemarno, dr., MS., SpPA(K), sebagai pembimbing ketiga, atas segala nasehat, bimbingan dan saran-saran yang diberikan serta waktu yang diluangkan bagi kami dalam penyelesaian karya akhir ini.
8. Yth. Prof. Soengeng Soekamto Martoprawiro, dr., MSc., MIAP., PKK., PhD., SpPA(K) almarhum, sebagai guru besar Ilmu Patologi, mantan kepala bagian yang semasa hidupnya telah memberikan dukungan dan petunjuk yang sangat berguna dalam penyelesaian karya akhir ini.
9. Yth. Koesomowardoyo,dr.,MSc.,SpPA., sebagai Kepala Instalasi Laboratorium Patologi Anatomi RSUD dr.Soetomo yang telah memberikan kesempatan kepada kami untuk dapat meminjam sediaan blok parafin untuk keperluan sampel kami
10. Yth. Harun Al Rasjid, dr., SpB-KBD sebagai staf pengajar divisi Bedah Digestif Laboratorium Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya yang telah membantu kami dalam mengumpulkan sampel untuk penelitian karya akhir ini.
11. Yth. Abdus Sjukur, dr., SpB-KBD sebagai staf pengajar divisi Bedah Digestif Laboratorium Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

Surabaya yang telah membantu kami dalam mengumpulkan sampel untuk penelitian karya akhir ini.

12. Yth. Soedjatmiko, dr., SpB-KBD sebagai staf pengajar divisi Bedah Digestif Laboratorium Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya yang telah membantu kami dalam mengumpulkan sampel untuk penelitian karya akhir ini.
13. Yth. Vicky S. Budipramana, dr., SpB-KBD sebagai staf pengajar divisi Bedah Digestif Laboratorium Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya yang telah membantu kami dalam mengumpulkan sampel untuk penelitian karya akhir ini.
14. Teman-teman dan sahabat yang terus memberikan dukungan serta doa selama masa pendidikan spesialisasi kami.
15. Kedua orang tua dan mertua kami yang tercinta dan saudara-saudara kami yang telah meringankan segala beban dan memberikan dukungan dan doa dalam segala hal selama kami menjalani masa pendidikan spesialisasi.
16. Istriku tercinta Firlia Lesmana, yang dengan penuh kesabaran dan pengorbanan selalu mendampingi serta memberikan dorongan dan semangat untuk segera menyelesaikan pendidikan spesialisasi ini.

Surabaya, Juni 2005

Penulis

DAFTAR ISI



ABSTRAK	i
KATA PENGANTAR	ii
UCAPAN TERIMA KASIH	iii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB 2 TINJAUAN KEPUSTAKAAN	
2.1 Anatomi	
2.1.1 Colon	6
2.1.1.1 Sistem arteri	7
2.1.1.2 Aliran vena	8
2.1.1.3 Aliran limfe	9
2.1.1.4 Sistem saraf	9
2.1.2 Rektum	9
2.1.2.1 Sistem arteri	13

2.1.2.2 Aliran vena	13
2.1.2.3 Aliran limfe	14
2.1.2.4 Sistem saraf	15
2.2 p53	
2.2.1 Definisi	16
2.2.2 Peranan protein p53	16
2.2.3 Mutasi gen p53	20
2.2.4 Hubungan gen p53 dengan karsinogenesis	21
2.2.5 Pemeriksaan immunohistokimia protein p53	22
2.3 Karsinoma kolorektal	
2.3.1 Epidemiologi	23
2.3.2 Etiologi	24
2.3.3 Karsinogenesis kolorektal	24
2.3.4 Morfologi	25
2.3.5 Gambaran klinis	26
2.3.6 Stadium klinis	27
2.3.7 Derajat differensiasi	30
2.3.8 Prognosis	31
BAB 3	
KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN	
3.1 Kerangka konseptual	36
3.2 Hipotesis penelitian	37
BAB 4	
METODE PENELITIAN	
4.1 Rancangan penelitian	38
4.2 Populasi	38
4.3 Sampel	38

4.4	Besar sample	38
4.5	Teknik pengambilan sample	40
4.6	Kriteria inklusi	41
4.7	Kriteria eksklusi	41
4.8	Variabel penelitian	41
4.9	Definisi operasional	41
4.10	Kerangka operasional	44
4.11	Lokasi dan waktu penelitian	44
4.12	Tahap penelitian	45
4.13	Analisa data	45
BAB 5	HASIL PENELITIAN	46
BAB 6	PEMBAHASAN	
6.1	Gambaran umum variabel penelitian	56
6.2	Hubungan antara ekspresi p53 dengan derajat differensiasi dan stadium klinis karsinoma kolorektal	57
BAB 7	KESIMPULAN DAN SARAN	
7.1	Kesimpulan	61
7.2	Saran	61
	DAFTAR PUSTAKA	62

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1. Klasifikasi karsinoma rektum oleh Dukes

Tabel 2.2. Modifikasi stadium C klasifikasi Dukes

Tabel 2.3. Stadium karsinoma kolorektal berdasarkan klasifikasi Dukes (modifikasi Astler-Coller)

Tabel 2.4. Staging AJCC dan UICC pada karsinoma kolorektal

Tabel 2.5. Perbandingan sistem TNM dengan klasifikasi Dukes

Tabel 2.6. Tipe histopatologi karsinoma kolorektal.

Tabel 2.7. Angka harapan hidup karsinoma kolorektal dengan klasifikasi modifikasi Dukes

Tabel 5.1. Karakteristik penderita

Tabel 5.2. Karakteristik Histopatologi

Tabel 5.3. Hasil pengecatan imunohistokimia

Tabel 5.4. Distribusi ekspresi p53 menurut grading histopatologi

Tabel 5.5. Distribusi ekspresi p53 menurut stadium penyakit

Tabel 5.6. Distribusi ekspresi p53 menurut lokasi tumor

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Vaskularisasi arteri pada kolon dan rektum.

Gambar 2.2. Anatomi anorektal.

Gambar 2.3. Anatomi anus dan rektum.

Gambar 2.4. Vaskularisasi anus dan rektum.

Gambar 2.5. Siklus sel normal.

Gambar 2.6 Peranan p53 dalam siklus sel

Gambar 2.7. Peranan p53 dalam menjaga integritas gen.

Gambar 2.8. Skematik perubahan morfologi dan molekuler pada adenocarcinoma.

Gambar 5.1 Sel-sel kelenjar normal yang negatif dengan pengecatan protein p53 dan dianggap sebagai kontrol. (T 0785/05, pembesaran 400x dengan mikroskop Olympus)

Gambar 5.2 Tampak sel-sel tumor yang menunjukkan ekspresi positif dengan protein p53 (sebelah kanan) sedang pada sebelah kiri tampak sel-sel tumor yang tidak menunjukkan ekspresi dengan protein p53 pada karsinoma kolorektal *well differentiated*. (T 0297/05, pembesaran 400x dengan mikroskop Olympus)

Gambar 5.3 Tampak sel-sel tumor positif dengan p53 pada inti dari karsinoma kolorektal *moderate differentiated* (PA 041015, pembesaran 400x dengan mikroskop Olympus).

Gambar 5.4 Sel-sel tumor kolorektal yang tidak menunjukkan ekspresi p53 pada karsinoma kolorektal *well differentiated*. (T 0785/05, pembesaran 400x dengan mikroskop Olympus)

Gambar 5.5 Beberapa inti sel tumor menunjukkan ekspresi positif dengan p53 pada karsinoma kolorektal *moderate differentiated* (PA 041115, pembesaran 400x dengan mikroskop Olympus)

Gambar 5.6 Inti sel tumor yang menunjukkan ekspresi protein p53 dengan intensitas sedang sampai kuat pada karsinoma kolorektal *moderate differentiated* (PA 041102, pembesaran 400x dengan mikroskop Olympus)

Gambar 5.7 Tampak inti sel tumor yang menunjukkan intensitas kuat dengan protein p53 pada karsinoma kolorektal *moderate differentiated* (PA 040734, pembesaran 400x dengan mikroskop Olympus)

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Rekapitulasi data sampel penderita karsinoma kolorektal

Lampiran 2. Uji statistik variabel penelitian

Lampiran 3. Teknik Pulasan Imunohistokimia dari Sediaan Blok Parafin dengan menggunakan DO7 di Laboratorium Ilmu Patologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

BAB 1

PENDAHULUAN

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

1.1 Latar Belakang Masalah

Karsinoma kolorektal merupakan salah satu penyebab utama kematian karena kanker di seluruh dunia dan di negara barat, peringkat kedua setelah karsinoma paru. Berdasarkan statistik di Amerika tahun 2002 tercatat kurang lebih 130.000 penderita baru yang terdiagnosa setiap tahunnya.⁽¹⁾ Di Indonesia tercatat pada data Dirjen Yan Med Depkes RI tahun 1990-1994, karsinoma kolorektal merupakan salah satu jenis keganasan yang sering dijumpai dan menduduki urutan ke lima dari seluruh jenis keganasan yang tercatat, akan tetapi angka insidensi dan mortalitasnya yang pasti di seluruh Indonesia belum diketahui.⁽²⁾

Mutasi pada p53 merupakan perubahan gen yang paling umum pada karsinoma yang terjadi di manusia, yang disebabkan oleh adanya perubahan ikatan DNA dan gangguan kontrol siklus sel (apoptosis). Bentuk yang mengalami mutasi ini menunjukkan *overexpression* yang berkaitan dengan pemanjangan waktu paruh p53 yang mengalami mutasi, dan hal ini dapat dengan mudah dideteksi oleh pemeriksaan imunohistokimia.^(3,4,5)

Sejak dilaporkan pertama kali tentang mutasi gen p53 pada karsinoma kolorektal lebih dari satu dekade yang lalu, sudah lebih dari 800 publikasi yang telah terbit tentang p53 ini. Pada awalnya dilaporkan pertumbuhan sel karsinoma kolorektal (*in vitro*) dapat disupresi dengan adanya *wild-type* p53, yang ternyata merupakan suatu tumor supresor gen.⁽⁶⁾ Pada tahun 1989, Baker, Diattre dkk melaporkan bahwa pada karsinoma kolorektal terjadi hilangnya allel pada kromosom 17p yang

p53 didapatkan pada 53,1 % adenokarsinoma kolorektal dan sering terdapat pada tumor bagian distal daripada bagian proksimal (58 % vs 41,7%).^(12,13) Kressner dkk mendapatkan 32 % *overexpression* p53 secara imunohistokimia pada kolon proksimal, sedangkan kolon distal dan rektum didapatkan 58%.⁽¹⁴⁾ Nilai prognostik rekurensi tumor berhubungan dengan *overexpression* protein p53 yang dipengaruhi oleh lokasi tumor.⁽¹²⁾

Penelitian-penelitian lain menunjukkan tidak adanya hubungan antara ekspresi p53 dengan usia pasien, umur, kadar CEA, letak dan ukuran tumor, status kelenjar getah bening atau TNM *staging*.^(10,15,16) Tidak adanya hubungan pada statistik, stadium Dukes dengan mutasi cDNA p53 dan *overexpression* p53 tetapi mutasi cDNA p53 berhubungan dengan *overexpression* p53.⁽¹¹⁾ Dalam penelitian Kressner dkk tidak didapatkan hubungan yang signifikan antara *overexpression* protein p53 dan *cancer-specific survival*. Tidak didapatkan informasi prognostik dari *overexpression* p53.⁽¹⁷⁾

Sun XF dkk dan Bosari S dkk mengemukakan bahwa ekspresi p53 sitoplasmik dapat merupakan indikator biologis yang berguna pada prognosis adenokarsinoma kolorektal.^(4,18) Hal senada juga diutarakan oleh Nathason dkk dan Domingues dkk bahwa ekspresi p53 dapat memprediksi prognosa pada karsinoma kolorektal.^(15,19) *Overexpression* p53 berhubungan dengan stadium penyakit, *grading* histopatologi, invasi vaskuler dan adanya *adenoma tubuler* atau *villous*.⁽¹⁵⁾

Matilda Navarro dkk menyatakan *overexpression* bisa didapatkan tanpa mutasi pada 27% kasus. Nilai prognostik *overexpression* protein p53 lebih tinggi dari mutasi gen p53.⁽⁷⁾

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah terdapat korelasi antara ekspresi protein p53 dengan stadium klinis karsinoma kolorektal ?
2. Apakah terdapat korelasi antara ekspresi protein p53 dengan derajat differensiasi karsinoma kolorektal ?
3. Apakah terdapat korelasi antara ekspresi protein p53 dengan lokasi karsinoma kolorektal ?

1.3 Tujuan penelitian

1.3.1 Tujuan umum

Mengetahui apakah ekspresi protein p53 merupakan petanda molekular yang mempunyai nilai prognostik pada karsinoma kolorektal

1.3.2 Tujuan khusus

- a. Meneliti apakah terdapat korelasi antara ekspresi protein p53 dengan stadium klinis karsinoma kolorektal ?
- b. Meneliti apakah terdapat korelasi antara ekspresi protein p53 dengan derajat differensiasi karsinoma kolorektal ?
- c. Meneliti apakah terdapat korelasi antara ekspresi protein p53 dengan lokasi karsinoma kolorektal ?

1.4 Manfaat Penelitian

- a) Sebagai dasar pertimbangan didalam upaya pengelolaan karsinoma kolorektal yang berbasis biomolekular. Dalam hal ini p53 dapat digunakan sebagai petanda seluler yang mempunyai nilai prognostik

b) Diharapkan dengan penelitian ini apabila terdapat hubungan yang bermakna antara ekspresi p53 dengan *grading* dan *staging* pasien maka dapat menambah informasi tentang prognostik pasien terhadap penyakitnya.

BAB 2

TINJAUAN KEPUSTAKAAN

2.1 ANATOMI

2.1.1 KOLON

Kolon, mulai dari ileum sampai rektum. Ileum terminal bergabung dengan sekum pada tepi posteromedial katup ileosekal. Lipatan *Treves* (satu-satunya lemak *appendage* antimesenterik pada usus kecil) terdapat pada ileum distal, proksimal dari katup ileosekal. Sekum terproyeksi dari sisi antimesenterik kolon asenden dan merupakan tonjolan besar yang buntu tanpa mesenterium. Sekum berdiameter kurang lebih 7,5 – 8,5 cm dan merupakan bagian kolon yang paling lebar. Diameter kolon berkurang ukurannya sampai ke arah sigmoid dan diameter terkecilnya 2,5 cm. Adanya perbedaan ukuran dari kolon ini dalam observasinya, tumor sekum sering tumbuh membesar sebelum timbulnya gejala-gejala, sedangkan tumor sigmoid memberikan gejala meski ukurannya kecil. Oleh karena diameter sekum yang besar merupakan tempat yang sering terjadi ruptur kolon karena obstruksi bagian distalnya.⁽²⁰⁾

Lapisan dinding kolon terdiri dari mukosa, submukosa, muskulus sirkularis (bagian dalam), muskulus longitudinal (bagian luar), *scrosa*. Muskulus yang longitudinal terpisah menjadi 3 bagian yang disebut *taenia coli* dan letaknya 120 derajat jauhnya masing-masing sekeliling kolon. Proksimal *taenia* bersatu di pangkal *appendik* dan ke distal menghilang sampai rektum proksimal setinggi level *promontorium sakrum*. *Haustra coli* berada di antara *taenia* dan dipisahkan oleh lipatan berbentuk bulan sabit yaitu *plica*

semilunaris. *Appendix epiploica* merupakan bentukan lemak tambahan melekat pada *taenia*.⁽²⁰⁾

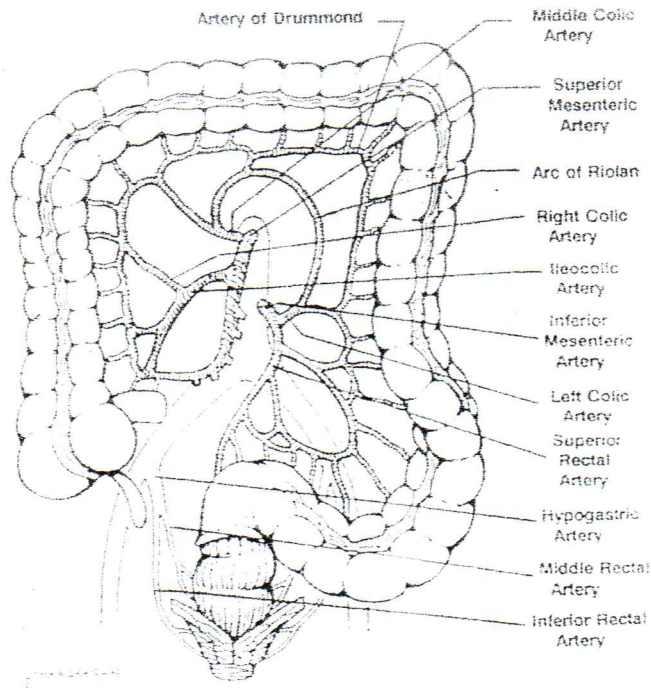
Omentum melekat pada kolon transversum pada tepi anterosuperior. Kolon asenden, kolon desenden dan permukaan posterior fleksura hepatica dan lienalis.⁽²⁰⁾

2.1.1.1 Sistem Arteri

Arteri mesenterika superior berawal dari permukaan ventral aorta dibawah *axis celiacus*. Arteri ini berjalan ke inferior dibelakang pankreas dan menyilang di depan duodenum bagian ketiga. Arteri ini mensuplai sekum, kolon asenden, kolon transversum melalui cabangnya yaitu arteri ileokolika dan arteri kolika media. Pada kurang dari 15% pasien, arteri kolika kanan berasal dari arteri mesenterika superior, 85% berasal dari ileokolika.⁽²⁰⁾

Arteri mesenterika inferior berawal dari aorta infrarenal dan mensuplai kolon desenden, sigmoid dan bagian atas rektum melalui cabangnya yaitu arteri kolika sinistra, arteri sigmoidalis, arteri rektal superior.⁽²⁰⁾

Kolateral antara arteri mesenterika superior dengan inferior terdapat pada daerah fleksura lienalis. Arteri ileokolika, arteri kolika kanan, media, dan kiri dihubungkan oleh pembuluh darah anastomose di perifer yang disebut arteri *marginalis Drummond*. Arteri ini berjalan sepanjang batas mesenterium kolon dan berhubungan dengan vasa rektal ke kolon.⁽²⁰⁾



Gambar 2.1. Vaskularisasi arteri pada kolon dan rektum. (Diambil dari : Kodner IJ, Fry RD, Fleshman JW, et.al.. Principles Of Surgery. 7th ed.,1999, p.1266)

2.1.1.2 Aliran Vena

Aliran vena dari kolon berjalan searah dengan arterinya, kecuali pada vena mesenterika inferior yang letaknya berdekatan dengan arteri kolika sinistra cabang ascenden. Vena mesenterika inferior menerima aliran dari kolon desenden, sigmoid, dan rektum proksimal. Vena ini berada di retroperitoneal di sebelah kiri dari ligamentum *Treitz*, kemudian berjalan dibelakang pankreas dan masuk ke vena splenik. Vena mesenterika superior menerima aliran darah dari kolon ascenden, kolon transversum dan bergabung dengan vena splenik untuk membentuk vena porta.⁽²⁰⁾

2.1.1.3 Aliran Limfe

Kolon dikelilingi oleh saluran limfatik yang berada di submukosa dan muskularis mukosa. Mukosa mengandung banyak pembuluh darah tapi tidak untuk saluran limfe. Oleh karena itu, kanker superfisial yang tidak menembus muskularis propria, tidak akan bermetastase melalui saluran limfe. Aliran limfe mengikuti arteri. Kelenjar limfe terletak pada dinding usus (epikolik), sepanjang batas dalam usus (parakolik), sekitar arteri mesenterika.⁽²⁰⁾

2.1.1.4 Sistem saraf

Saraf simpatis akan menghambat peristaltik, dan kebalikannya pada saraf parasimpatis. Serat simpatis ke kolon kanan berasal korda spinalis segmen thorakal 6. Serat ini berjalan pada saraf splanchnic thorakalis ke plexus seliacus dan kemudian ke plexus mesenterikus superior. Serat parasimpatis mensuplai kolon transversum bagian kanan.

Innervasi simpatis kolon kiri dan rektum berasal dari 3 segmen lumbal pertama. Saraf ini akan bergabung dengan plexus preaortik dan menjadi plexus mesenterikus inferior dibawah percabangan aorta. Saraf parasimpatis ke kolon kiri berasal dari saraf sakrum untuk membentuk saraf erigentes pada sisi lain dari rektum.⁽²⁰⁾

2.1.2 REKTUM

Rektum berawal dari promontorium os sakrum dengan tiga taenia yang menyebar untuk membentuk lapisan lengkap dari otot polos longitudinal.

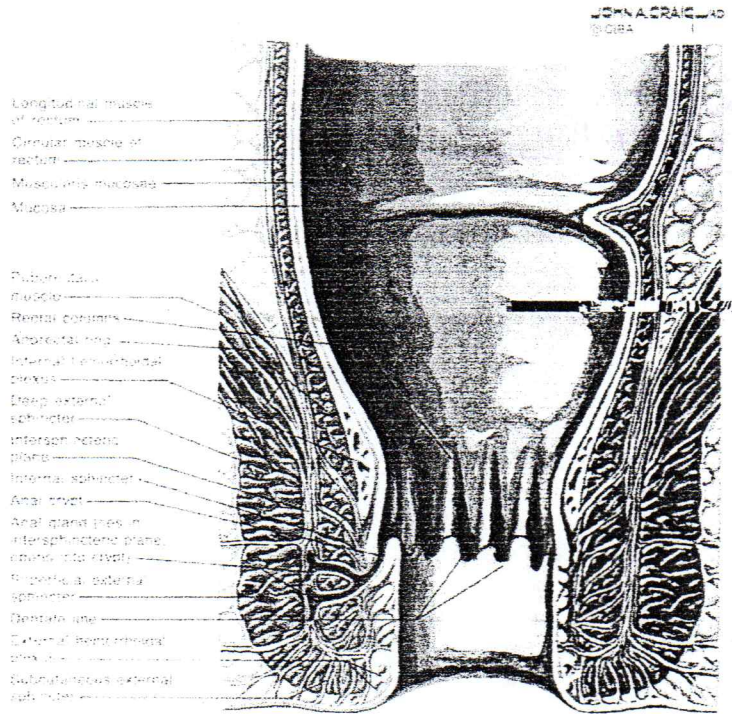
Rektum ini meluas ke inferior sampai otot levator ani dengan panjang antara 12 – 15 cm. Terdapat 2 atau 3 kurva lateral yang membentuk lipatan submukosa pada lumen rektum yang disebut sebagai katub dari *Houston*. Peritoneum menutupi 2/3 rektum pada bagian anterior, selubung peritoneum ini berjarak sekitar 6-8 cm dari tepi anus. Pada bagian lateral hanya 1/3 bagian saja yang ditutupi oleh peritoneum sedangkan 1/3 bawah rektum sepenuhnya tidak diliputi oleh peritoneum. Batas peritoneal bagian posterior pada umumnya berjarak 12-15 cm dari tepi anus.⁽²⁰⁾

Rektum ekstra peritoneal dilapisi oleh fascia endopelvik. Dibagian posterior fascia ini disebut fascia propria dari rektum. Fascia presakral adalah fascia endopelvik yang kuat yang meliputi seluruh permukaan anterior dari sakrum dan pembuluh darah serta syaraf yang berjalan di atasnya. Pada level sakrum IV fascia presakral juga menyebar ke atas dan ke bawah sampai mencapai rektum. Fascia ini disebut sebagai fascia *Waldeyer* atau fascia retrosakral. Fascia endopelvik yang menutupi rektum ekstraperitoneal anterior adalah fascia *Denonvillier*. Fascia endopelvik lateral lebih tebal dan disebut sebagai *lateral stalk*. Mobilisasi penuh dari rektum dimungkinkan dengan memisahkan *lateral stalks*, fascia *Denonvillier* dan fascia *Waldeyer*. *Surgical anal canal* yang panjangnya lebih kurang 4 cm, merupakan bagian akhir dari usus besar yang melalui otot levator ani dan membuka ke tepi anus. Hal ini berbeda dengan *anatomic anal canal* yang dimulai dari *linea dentata* sampai tepi anus. Dinding otot bagian dalam merupakan kelanjutan dari otot polos sirkuler rektum yang menjadi tebal dan disebut sebagai *internal sphincter* yang dipersyarafi oleh sistem syaraf otonomik. Sfingter interna ini dikelilingi oleh 3 buah lilitan otot yang berbentuk U. Lilitan teratas adalah

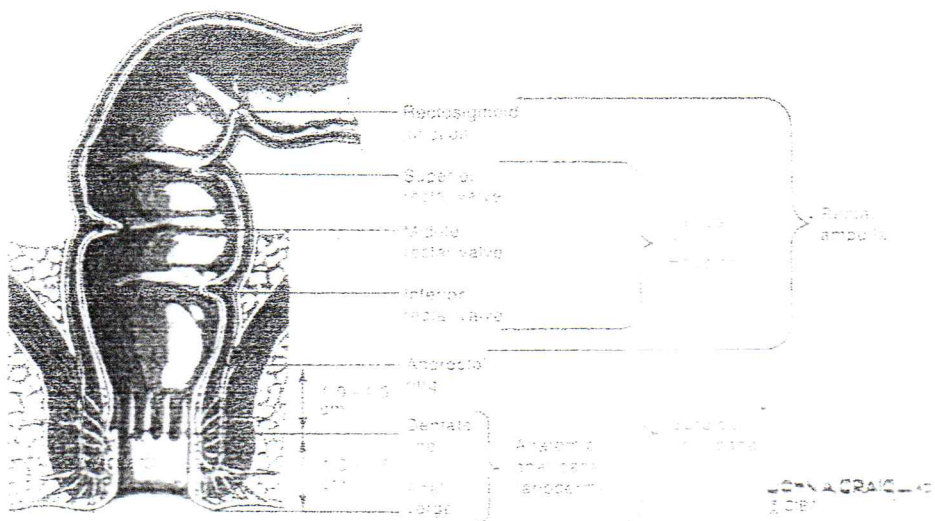
m.puborektalis yang merupakan bagian terdalam dari otot-otot sfingter eksterna yang berawal dari os pubis. Lilitan intermediate adalah m. Sfingter eksterna superfisial yang mengelilingi kanalis anal dan menempel pada koksigerus melalui ligamentum anokoksigeal. Lilitan terbawah adalah bagian subkutaneus m.sfingter eksterna.⁽²⁰⁾

Cincin anorektal adalah bagian teratas dari kanalis anal pada tempat terjadinya penebalan karena adanya lilitan m.puborektalis. Bagian ini dapat diraba pada pemeriksaan colok dubur pada kuadran lateral dan posterior. Pada bagian distal terdapat serat-serat *corugator cutis ani* yang menutupi sfingter eksterna dan menyebabkan kerutan dari muara anus.⁽²⁰⁾

Pada pertengahan kanalis anal terdapat demarkasi yang menonjol dan disebut sebagai linea dentata atau pektinatum (2 cm dari muara anus). Terdapat 6 – 14 lipatan mukosa longitudinal dibawah garis dentatum ini yang disebut sebagai kolumna dari *Morgagni*. Diantaranya pada bagian bawah terdapat kripa-kripa kecil tempat pengosongan kelenjar anus. Sekitar 1 cm dari garis dentatum, lapisan epitel menjadi kolumnar, transisional atau skuamous bertingkat dan disebut sebagai zona transisional atau kloakogenik, daerah ini juga merupakan tempat pleksus hemoroidalis interna. Daerah dibawah zona transisional dilapisi epitel berbentuk kolumnar sedangkan dibawah garis dentatum berupa epitel skuamous.⁽²⁰⁾



Gambar 2.2. Anatomi anorektal. (Diambil dari : Kodner IJ, Fry RD, Fleschman JW, et.al. Principles Of Surgery. 7th ed., 1999, p.1268)



Gambar 2.3. Anatomi anus dan rektum. (Diambil dari : Kodner IJ, Fry RD, Fleschman JW, et.al. Principles Of Surgery. 7th ed., 1999, p.1268)

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

2.1.2.1 Sistem Arteri

Arteri rektal (hemoroidalis) superior merupakan kelanjutan dari arteri mesenterika inferior yang mengarah ke rektum di posterior dan bercabang untuk vaskularisasi rektum dan bagian atas dari kanal anus.

Arteri rektal (hemoroidalis) medialis berasal dari arteri iliaka interna dan memasuki bagian bawah rektum dari anterolateral pada level muskulus levator ani. Arteri ini beranastomose dengan cabang-cabang arteri rektal superior.⁽²⁰⁾

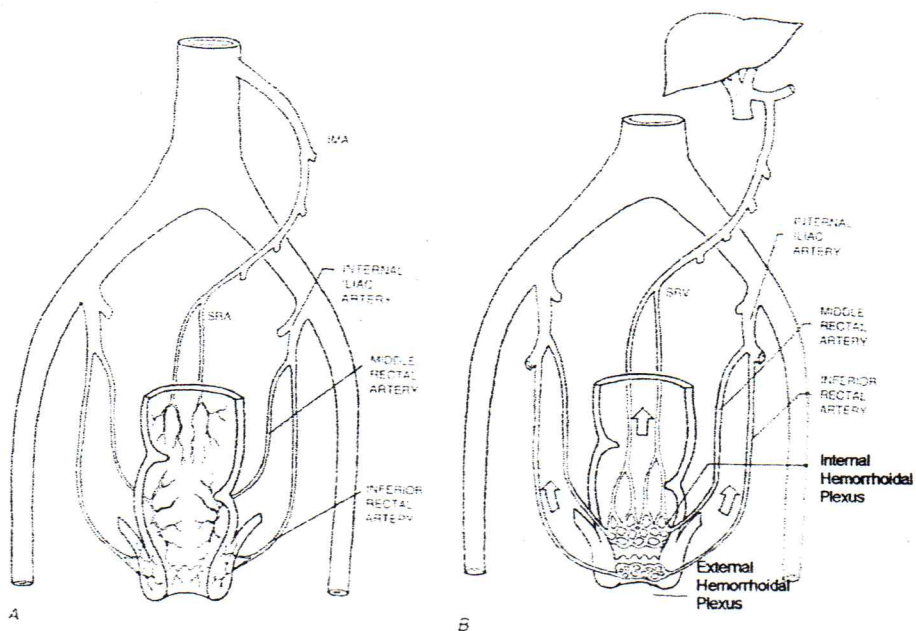
Arteri rektal (hemoroidalis) inferior berasal dari arteri pudendalis interna, cabang dari arteri iliaka interna dan menembus fosa ischiorektal untuk mensuplai otot-otot sfingter ani. Tidak terdapat anastomose langsung antara arteri rektal superior dan inferior.⁽²⁰⁾

Arteri sakralis medius muncul dari posterior dibawah bifurkasio aorta turun melalui vertebra lumbalis, sakrum dan koksigeus dan memberi cabang-cabang kecil ke dinding posterior dari rektum bagian bawah.⁽²⁰⁾

2.1.2.2 Aliran Vena

Aliran vena dari rektum dan kanal anus melalui dua sistem yaitu sistem portal dan sistemik. Vena rektal (hemoroidalis) superior mengalirkan darah dari rektum dan bagian atas kanalis anus ke dalam sistem portal melalui vena mesenterika inferior. Vena rektal (hemoroidalis) medius mengalirkan darah dari bagian bawah rektum

dan bagian atas kanalis anus. Vena-vena tersebut berjalan bersama arteri rektal medius dan berakhir pada vena iliaka interna. Vena rektal (hemoroidalis) inferior mengalirkan darah dari bagian bawah kanalis anus melalui vena pudendalis interna yang berakhir pada vena iliaka interna.⁽²⁰⁾



Gambar 2.4. Vaskularisasi anus dan rektum. (Diambil dari : Kodner IJ, Fry RD, Fleshman JW, et.al. Principles Of Surgery. 7th ed., 1999, p. 1270).

2.1.2.3 Aliran Limfa

Aliran limfa dari bagian atas dan tengah rektum menuju ke atas sepanjang arteri rektalis superior dan menuju ke kelenjar limfa mesenterikus inferior. Bagian bawah rektum dialirkan ke atas melalui sistem limfatik rektalis superior ke kelenjar mesenterikus inferior dan

ke lateral ke kelenjar iliaka internus melalui sistem limfa rektalis medius.⁽²⁰⁾

Sistem limfa dari kanalis anus diatas linea dentata dialirkan ke atas melalui sistem limfatik rektalis superior menuju kelenjar mesenterikus inferior dan ke lateral sepanjang pembuluh darah rektalis medius dan inferior melalui fosa isiorektal ke kelenjar iliaka internal. Sedangkan sistem limfa kanalis anus dibawah linea dentata biasanya dialirkan ke kelenjar inguinal. Dapat pula dialirkan melalui kelenjar rektalis superior atau sepanjang kelenjar limfa rektalis inferior ke fosa isiorektal bila terjadi obstruksi pada pengaliran primer.⁽²⁰⁾

2.1.2.4 Sistem syaraf

Serat syaraf simpatik ke rektum berasal dari tiga segmen pertama dari jaras spinal yang berjalan melalui rantai ganglion simpatik dan keluar sebagai syaraf simpatik lumbalis dan bergabung dengan pleksus preaortik. Serat-serat preaortik membentuk pleksus hipogastrikus superior atau syaraf presakral dibawah bifurkasio aorta. Pleksus tersebut kemudian bergabung bersama cabang-cabang parasimpatik membentuk pleksus peivikus.⁽²⁰⁾

Syaraf parasimpatik sakralis atau syaraf erigentes berasal dari syaraf sakralis kedua, ketiga dan keempat. Serat-serat syaraf tersebut bergabung bersama serat syaraf simpatik membentuk pleksus peivikus. Dari pleksus ini kedua jenis serabut syaraf didistribusikan ke organ-organ seksual dan urinarius dan kebawah ke rektum dan anus.⁽²⁰⁾

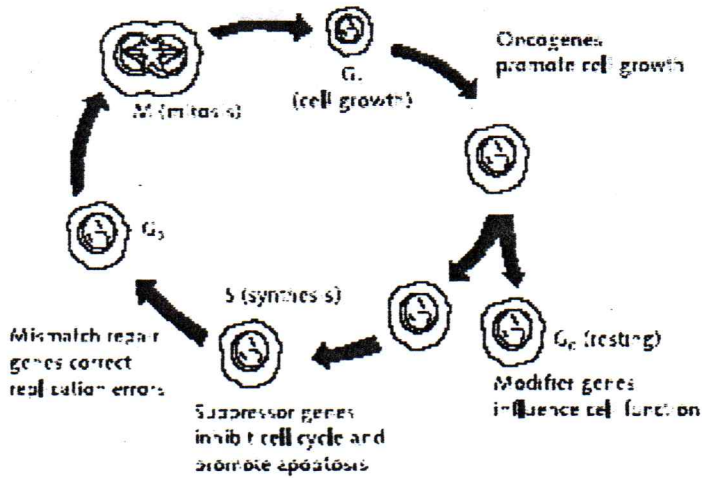
2.2 p53

2.2.1 DEFINISI

p53 merupakan gen yang mensupresi tumor yang terletak pada kromosom 17p13.1 dan merupakan target yang paling sering mengalami perubahan gen pada manusia. Lebih dari 50% tumor pada manusia mengandung mutasi gen ini. Kehilangan gen 53 homozigot ditemukan pada setiap kanker termasuk karsinoma paru, kolon dan payudara yang merupakan 3 besar penyebab kematian kanker. p53 adalah salah satu dari beberapa jenis *tumor suppressor gene* penting selain gen Rb dan gen *DCC* (*Deleted in Colonic Cancer*).^(21,22)

2.2.2 PERANAN PROTEIN p53

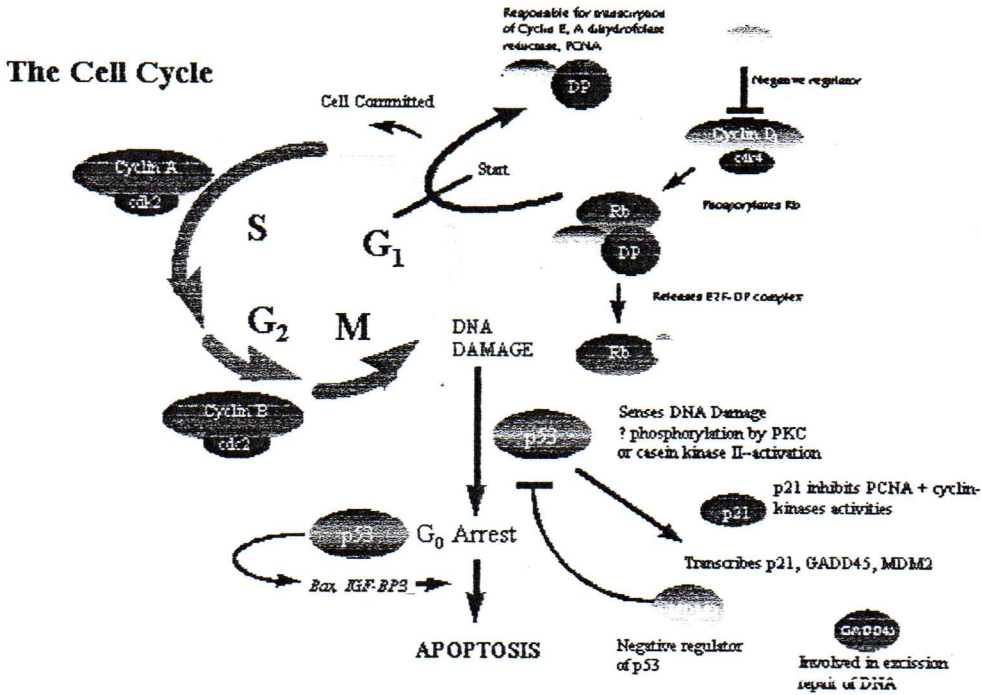
Protein p53 mempunyai fungsi utama yaitu *cell cycle arrest* (penghentian siklus sel), dan memulai terjadinya apoptosis sebagai respon terhadap kerusakan DNA. Kenyataan bahwa mutasi p53 umumnya terjadi pada berbagai macam tumor menunjukkan protein p53 merupakan suatu “penjaga gerbang” utama terhadap pembentukan kanker. Hal ini terbukti dimana p53 berperan sebagai “polisi molekuler” yang mencegah terjadinya propagasi dari sel-sel yang rusak secara genetika.⁽²¹⁾



Gambar 2.5. Siklus sel normal. (Diambil dari : Calvert PM, Frucht H. Ann Intern Med 2001, 137, p.604)

Protein p53 terletak pada nukleus dan fungsinya terutama mengontrol transkripsi beberapa gen yang lain. Dalam kondisi fisiologis, p53 mempunyai waktu paruh yang pendek (20 menit), mungkin diperkirakan karena "ubiquitin-mediated" proteolisis. p53 dipanggil untuk beraksi pada saat yang darurat bagi sel yaitu bila ada kerusakan DNA karena iradiasi, ultraviolet, atau bahan kimia mutagenik, selain itu aktivasi p53 juga dapat terstimulasi oleh keadaan hipoksia, genotoksik, hiperoksia, perubahan metabolik dan aktivasi onkogen. Kemudian terjadi elevasi level p53 dan aktivasi p53 sebagai faktor transkripsi. *Wild type* p53 (p53 yang normal) terakumulasi dan kemudian berikatan dengan DNA serta menstimulasi transkripsi beberapa gen yang kemudian mempengaruhi dua hal pokok yang merupakan efek mayor p53, yaitu berhentinya siklus sel dan apoptosis. Berhentinya siklus sel yang diinduksi oleh p53 terjadi lambat pada fase G₁ dan ini disebabkan oleh transkripsi CDK inhibitor p21 yang

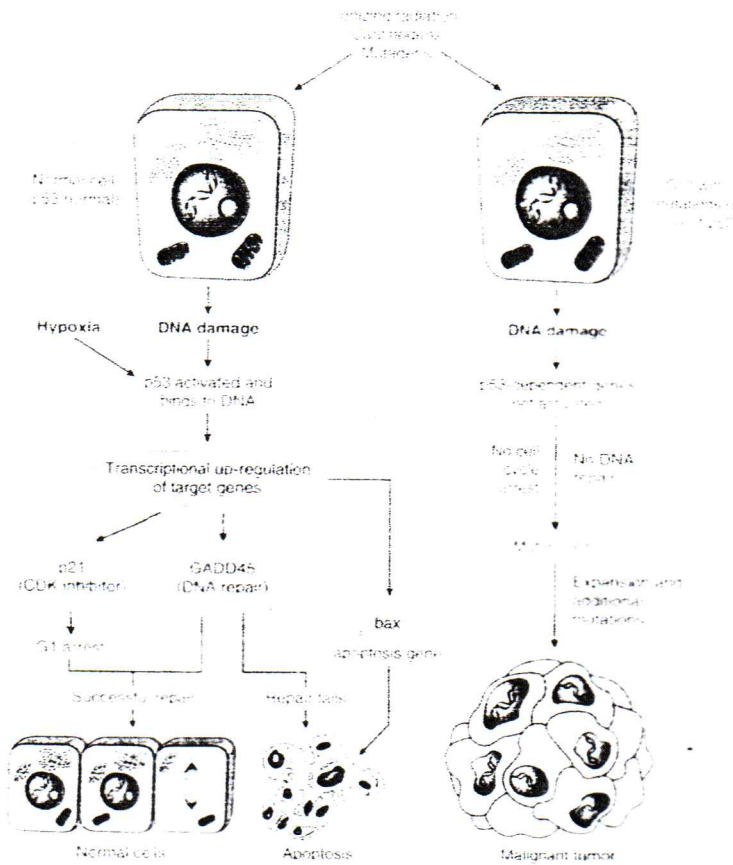
“p53-dependent”. Gen p21 menghambat *cyclin*/kompleks CDK dan mencegah fosforisasi pRb yang dibutuhkan sel untuk memasuki fase S.⁽²¹⁾



Gambar 2.6 Peranan p53 dalam siklus sel (Diambil dari *ARF-MDM2-P53 signaling pathway*. Available : <http://www.humphath.com>)

Berhentinya siklus sel ini juga menguntungkan karena hal ini memberikan waktu sel untuk melakukan perbaikan kerusakan DNA yang disebabkan oleh agen mutasi. P53 juga membantu proses ini secara langsung dengan menginduksi transkripsi GADD45 (Growth Arrest and DNA Damage), suatu protein yang terlibat pada perbaikan DNA. GADD45 juga membantu berhentinya fase G₁. Jika kerusakan DNA dapat diperbaiki dengan sempurna, p53 mengaktifasi gen *mdm2* dimana produknya akan berikatan dengan p53 dan *down-regulate* p53, yang akhirnya akan menghilangkan blok siklus sel. Jika dalam penghentian pembagian sel, kerusakan DNA

tidak dapat diperbaiki dengan sempurna, p53 yang normal akan memberikan signal sehingga akan membuang sel tersebut ke tempat pembuangan dengan menginduksi aktivasi gen yang menginduksi apoptosis. *Bax* dan *IGF-BP3* merupakan 2 gen yang respons terhadap p53 yang membawa perintah p53 untuk kematian sel. *Bax* akan berikatan dan berantagonis dengan protein yang menginduksi apoptosis, *bcl-2*. *IGF-BP3* akan berikatan dengan reseptor *IGF* (insulin-like growth factor) dan mungkin akan menginduksi apoptosis dengan memblokir signal intraseluler yang diperantarai *IGF*.⁽²¹⁾



Gambar 2.7. Peranan p53 dalam menjaga integritas gen. (Diambil dari : Cotran RS, Kumar V, Collins T. *Robbins pathologic basis of disease*. 6th ed., 1999, p.291)

2.2.3 MUTASI GEN p53

Mutasi gen p53 merupakan langkah pertengahan atau akhir dari rangkaian perubahan genetik, yang dibutuhkan untuk perkembangan banyak tumor. Mutasi p53 terjadi pada stadium yang berbeda pada berbagai tipe tumor, misalnya dapat terjadi sekitar atau selama transisi antara adenoma dan karsinoma kolon, atau terjadi lebih dini seperti pada perkembangan glioma dan kadang pada fase insitu dari karsinoma payudara.⁽²⁵⁾

Mayoritas mutasi somatik pada tumor manusia adalah *point mutation*, yang mengakibatkan terjadinya penggantian tempat salah satu asam amino oleh asam amino yang lain pada protein p53 (*missense mutation*).⁽²⁵⁾ Suatu studi melaporkan bahwa 85,6% mutasi pada gen p53 merupakan *missense mutation*, yang memproduksi protein yang salah atau terjadi perubahan protein, sehingga protein p53 mutan ditemukan dalam konsentrasi yang tinggi pada sel-sel tumor. Mutasi yang lain adalah *deletion* (8,1%) atau *insertion* (sekitar 17% nya adalah pada *reading frame*, yang dapat memproduksi protein yang salah), 5,5% adalah *nonsense (chain termination)* atau yang lain seperti *frameshift mutation*, dan 0,8% adalah *silent mutation* yang tidak mengakibatkan terjadinya perubahan asam amino. Protein p53 mutan kehilangan fungsinya dan tidak dapat mengawasi integritas dari *cellular genome*.^(25,26)

Sebagian besar mutasi (92,1%) terjadi diantara kodon 120 dan 290 pada domain *DNA-binding* dari protein p53. Beberapa kodon berubah lebih sering daripada yang lain, disebut sebagai *hot spot mutation*, yaitu kodon 175, 213, 245, 248, 249, 273, dan 282. Masing-masing tumor memiliki *hot spot mutation* sendiri.⁽²⁶⁾

Mutasi yang mengenai kedua *allele* p53 terjadi pada sel somatik, namun ada beberapa individu yang secara menurun mempunyai *allele* p53 yang mutan. Pewarisan dari satu *allele* yang mutan menyebabkan individu tersebut mempunyai predisposisi menderita tumor ganas, karena hanya memerlukan satu tambahan *hit* untuk menginaktivasi *allele* kedua yang masih normal (teori *multihit*).^(25,26,27) Pada individu normal yang menderita tumor sporadik, kedua *allele* p53 pada sel yang sama harus diinaktivasi oleh mutasi somatik.⁽²⁵⁾

Sekitar 60% kanker pada manusia mengandung mutasi p53. Terdapat 2 pola, yang pertama yaitu beberapa karsinoma seperti kolon, paru, kandung kemih, prostat, payudara dan kulit, memiliki persentase mutasi p53 yang tinggi dan cenderung lebih agresif, resisten terhadap kemoterapi, dan mempunyai respon yang jelek terhadap hampir semua protokol dibandingkan jaringan yang sama dengan *wild type* p53. Pola kedua adalah kelompok karsinoma yang jarang mengandung mutasi p53, yaitu *testicular teratocarcinoma* dan *acute lymphoblastic leukemia*.⁽²⁶⁾

2.2.4 HUBUNGAN GEN p53 DENGAN KARSINOGENESIS

Karsinogenesis merupakan proses yang bertingkat dan multifaktorial. Dalam karsinogenesis dapat terjadi perubahan pada proto-onkogen, gen pensupresi tumor (anti onkogen), gen pengatur apoptosis, dan gen perbaikan DNA. Gen-gen tersebut merupakan gen pengatur pertumbuhan normal.⁽²⁷⁾

Fakta bahwa mutasi p53 sering didapatkan pada berbagai tumor manusia menimbulkan dugaan bahwa protein p53 berperan sebagai penjaga pintu

(*gate keeper*) melawan pembentukan kanker. Apabila terjadi mutasi gen p53, atau hilangnya homozygous dari p53, maka akan terjadi perubahan pada protein produknya, yang disebut protein p53 mutan. Protein p53 mutan mempunyai waktu paruh yang lebih lama daripada protein p53 *wild type*. Protein p53 mutan tidak menghambat pertumbuhan atau siklus sel pada fase G1 sehingga kerusakan DNA tidak dapat diperbaiki dan mutasi akan menetap dalam sel yang membelah diri, sehingga sel menuju transformasi maligna.⁽²⁷⁾

Protein p53 yang abnormal yang diproduksi oleh gen p53 yang mengalami mutasi juga dapat mengikat produk gen p53 yang normal, dan menghambat fungsinya sebagai penghambat proliferasi sel.⁽²⁷⁾

Sel tumor yang mengandung gen p53 yang mengalami mutasi akan resisten terhadap apoptosis, sehingga sel tumor yang kekurangan p53 normal ini akan lebih progresif tumbuhnya. Kemampuan p53 untuk mengontrol apoptosis sebagai respon terhadap kerusakan DNA juga memiliki implikasi praktis dalam terapi kanker. Radiasi dan kemoterapi merupakan 2 terapi utama kanker yang berefek menginduksi kerusakan DNA dan apoptosis. Sel tumor yang tetap memiliki gen p53 normal lebih berespon terhadap terapi daripada tumor yang mengandung p53 mutan.^(25,27)

2.2.5 PEMERIKSAAN IMUNOHISTOKIMIA PROTEIN p53

Salah satu marker prognostik yang dapat diperiksa secara imunohistokimia adalah p53. p53 yang terdeteksi oleh pemeriksaan imunohistokimia merupakan p53 yang telah mengalami mutasi.⁽⁵⁾ Dengan terjadinya mutasi

onkogenik maka terdapat peningkatan stabilitas protein p53 sehingga memiliki waktu paruh yang memanjang sehingga dapat terdeteksi dalam jaringan setelah difiksasi.

Beberapa antibodi yang dapat mendeteksi adanya p53 ekspresi adalah :

1. CM1
2. PAb1801
3. DO7
4. DO1

Dari keempat antibodi tersebut memberikan hasil pengecatan nukleus pada sel tumor sementara CM1 juga memberikan pengecatan pada sitoplasmik selain pada nukleus. Frekuensi pengecatan yang positif paling tinggi adalah dengan CM1 sebesar 49%, diikuti oleh DO1 (44%), DO7 (30%) dan yang paling rendah Pab1801 (18%). *Overexpression* p53 dapat ditunjukkan pada 61% kasus bila menggunakan paling sedikit satu dari antibodi tersebut.⁽²⁸⁾

2.3 KARSINOMA KOLORECTAL

2.3.1 EPIDEMIOLOGI

Insidens karsinoma kolorektal memuncak pada usia 60-79 tahun, Kurang dari 20% kasus terjadi sebelum usia 50 tahun. Jika ditemukan karsinoma kolorektal pada pasien usia muda, perlu dicurigai adanya kolitis ulseratifa atau salah satu sindroma poliposis. Karsinoma kolorektal tersebar di seluruh dunia, dengan angka kematian yang tinggi di Amerika Serikat dan negara-negara Eropa timur sampai sepuluh kali lebih rendah pada Meksiko, Amerika Selatan dan Afrika. Faktor lingkungan

khususnya faktor diet sangat mempengaruhi distribusi geografis tersebut.⁽²¹⁾

2.3.2 ETIOLOGI

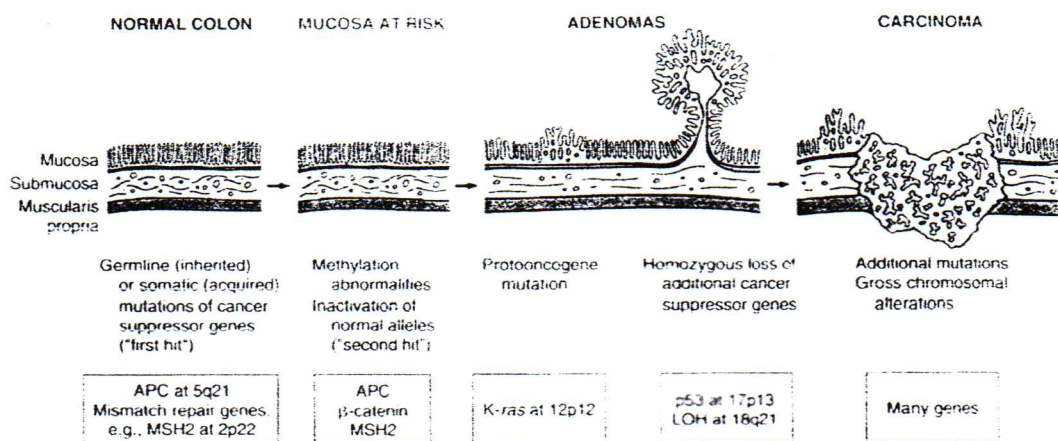
Penelitian diet mengemukakan bahwa obesitas dan kurangnya aktifitas fisik merupakan salah satu faktor terjadinya karsinoma kolon. Faktor-faktor diet yang mendapat perhatian paling banyak sebagai predisposisi tingginya insiden karsinoma kolon adalah : intake energi yang relatif melebihi kebutuhan, rendahnya diet sayuran yang tidak diserap, tingginya kadar karbohidrat, intake daging mentah, penurunan intake mikronutrisi protektif.⁽²¹⁾

Secara teori, rendahnya diet serat menyebabkan sedikitnya gumpalan tinja yang dibentuk, meningkatnya waktu transit tinja di usus dan terjadi perubahan flora bakteri di usus. Degradasi karbohidrat oleh bakteri menghasilkan produk-produk oksidatif yang toksik, lama kelamaan konsentrasinya tinggi pada tinja dan akan kontak dengan waktu yang lama dengan mukosa kolon. Tingginya kolesterol pada daging mentah akan meningkatkan sintesis asam empedu oleh hepar, dimana pada gilirannya akan dikonversi oleh bakteri usus menjadi bahan karsinogen yang potensial. Diet yang kurang mengandung vitamin A, C, E yang dapat bertindak sebagai antioksidan.⁽²¹⁾

2.3.3 KARSINOGENESIS KOLOREKTAL

Telah terpostulasi bahwa pada awalnya terjadi kehilangan satu copy normal gen supresor tumor APC ("*gatekeeper*") dan/atau hilangnya gen

perbaikan DNA ("caretaker"). Oleh karena itu maka seseorang yang lahir dengan satu alel yang termutasi dari salah satu gen tersebut, nantinya akan menderita karsinoma kolon lebih dini *Second Hit* terjadi karena hilangnya copy normal dari gen *mismatch-repair* atau APC. Mutasi dari onkogen K-ras terjadi berikutnya. Mutasi tambahan dan hilangnya heterozigositas membuat inaktivasi gene supresor tumor p53, yang akhirnya akan menjurus ke arah karsinoma.^(21,29)



Gambar 2.8. Skematik perubahan morfologi dan molekuler pada adeno – carcinoma. (Diambil dari : Cotran RS, Kumar V, Collins T. Robbins pathologic basis of disease. 6th ed., 1999, p.832)

2.3.4 MORFOLOGI

Distribusi karsinoma kolorektal sebagai berikut : sekum dan kolon ascenden, 38%; kolon transversum, 18%; kolon descenden, 8%; sigmoid 35%; dan tempat multipel, 1%. Sebagai bukti, 99% karsinoma terjadi tunggal, tetapi bila terdapat karsinoma multipel, sering letaknya agak

berjauhan pada kolon. Kebanyakan kasus terjadi secara sporadis, sekitar 1-3% karsinoma kolorektal terjadi pada pasien dengan sindroma familial seperti *familial adenomatous polyposis* atau HNPCC) atau penyakit inflamasi usus.

Meskipun semua karsinoma kolorektal dimulai dengan lesi in situ, karsinoma kolorektal terbagi dalam berbagai pola morfologi. Tumor pada kolon proksimal cenderung tumbuh polipoid dan eksofitik dan obstruksi jarang terjadi. Jika karsinoma terjadi pada kolon distal maka cenderung tumbuh anular dan lesi melingkar yang akan terbentuk *napkin ring konstiksi* pada usus. Akan tetapi berbeda dengan histopatologinya, dimana karakteristik *adenokarsinoma* kolon kanan dan kiri adalah sama.⁽²¹⁾

2.3.5 GAMBARAN KLINIS

Karsinoma kolorektal memberikan gejala asimtomatis selama bertahun-tahun; gejala mulai secara mendadak dan sering dialami dalam beberapa bulan atau bahkan tahunan sebelum diagnosis. Sekum dan kolon kanan paling sering menimbulkan gejala seperti kelelahan, lemas dan anemia defisiensi besi. Tumor yang membesar tersebut dapat memberikan perdarahan dan dapat dideteksi pada stadium dini, baik dari pemeriksaan radiologi sampai kolonoskopi. Lesi kolon kiri menimbulkan gejala : darah tinja tersamar, perubahan kebiasaan buang air besar, rasa tidak enak pada kuadran kiri bawah abdomen. Karsinoma rektum dan sigmoid cenderung untuk lebih infiltratif daripada lesi di sisi proksimal, sehingga memberikan prognosis yang jelek. Perlu diperhatikan bahwa anemia

defisiensi besi pada orang tua berarti curiga terdapat kanker gastrointestinal sampai dibuktikan tidak ada.

Semua tumor kolorektal menyebar baik dengan ekstensi langsung melalui jaringan sekitarnya dan dengan metastasis melalui saluran limfe dan pembuluh darah. Tempat penyebaran metastase yang paling sering adalah kelenjar getah bening regional, hepar, paru dan tulang kemudian diikuti oleh tempat yang lain seperti membran serosa cavum peritoneum, otak dll.⁽²¹⁾

2.3.6 STADIUM KLINIS

Pada tahun 1926, Lockhart dan Mummery mengklasifikasikan pertama kali karsinoma rektum berdasarkan luasnya tumor secara anatomis dan harapan hidupnya. Dukes, pada tahun 1932 mengemukakan klasifikasi yang ditulis dengan namanya.⁽³⁰⁾

Tabel 2.1. Klasifikasi karsinoma rektum oleh Dukes.^(30,31,32)

Stadium A	Terbatas pada dinding rektum
Stadium B	Ektensi pada jaringan ekstrarektum, tetapi tidak ada metastasis pada kelenjar getah bening regional
Stadium C	Metastase pada kelenjar getah bening regional

Pada tahun 1935, stadium C mengalami modifikasi menjadi 2 bagian yaitu C1 dan C2.⁽³¹⁾

Tabel 2.2. Modifikasi stadium C klasifikasi Dukes⁽³¹⁾

Stadium C1	Metastase ke kelenjar getah bening regional
Stadium C2	Metastase ke kelenjar limfe pada titik ligasi pembuluh darah mesenterium

Setelah klasifikasi Dukes tersebut, muncul sejumlah klasifikasi lain. Pada tahun 1954, Denoix mengusulkan klasifikasi kanker TNM berdasarkan luasnya tumor. Beahrs dan Myers mengadaptasi sistem TNM untuk *staging* karsinoma kolorektal.⁽³⁰⁾

Astler-Coller melakukan modifikasi pada klasifikasi Dukes pada tahun 1954.

Tabel 2.3. Stadium karsinoma kolorektal berdasarkan klasifikasi Dukes (modifikasi Astler-Coller)^(30,31,33).

Dukes' A	Terbatas pada mukosa dan submukosa
Dukes' B ₁	Penetrasi pada muskularis mukosa tanpa penetrasi total pada muskularis propria
Dukes' B ₂	Penetrasi total pada muskularis propria
Dukes' B ₃	Jaringan sekitarnya terinfiltrasi
Dukes' C ₁	Dukes B ₁ + kelenjar limfe terinfiltrasi
Dukes' C ₂	Dukes B ₂ + kelenjar limfe terinfiltrasi
Dukes' C ₃	Dukes B ₃ + kelenjar limfe terinfiltrasi
Dukes' D	Metastase jauh

AJCC/UICC (American Joint Committee on Cancer/Union Internationale Centre Le Cancer) mengemukakan sistem TNM yang sering dipakai.⁽³¹⁾

Tabel 2.4. *Staging* AJCC dan UICC pada karsinoma kolorektal⁽³¹⁾

TX	Tumor primer tidak dapat dinilai
T0	Tidak terdapat tumor primer
Tis	Karsinoma in situ
T1	Tumor menginfiltrasi submukosa
T2	Tumor menginfiltrasi muskulus propria
T3	Tumor menginfiltrasi melalui muskulus propria ke subserosa atau ke jaringan pericolon atau perirektal

T4	Tumor menembus peritoneum viscera atau menginvasi langsung ke jaringan atau organ lain.
NX	Kelenjar getah bening regional tidak dapat dinilai
N0	Tidak didapatkan metastase ke kelenjar limfe
N1	Metastase tumor pada satu sampai tiga kelenjar limfe
N2	Metastase tumor pada empat atau lebih kelenjar limfe
MX	Adanya metastase jauh tidak dapat dinilai
M0	Tidak didapatkan metastase jauh
M1	Didapatkan metastase jauh.

Stadium 0.	T _{is} N ₀ M ₀
Stadium I	T ₁ N ₀ M ₀ atau T ₂ N ₀ M ₀
Stadium II	T ₃ N ₀ M ₀ atau T ₄ N ₀ M ₀
Stadium III	Any T Any N (kecuali N ₀) M ₀
Stadium IV	Any T Any N M ₁

Pembagian stadium berubah pada stadium III yaitu menjadi :⁽³⁵⁾

Stadium III A : T1-2 N1 M0

Stadium III B : T3-4 N1 M0

Stadium III C : any T N2 M0

Tabel 2.5. Perbandingan sistem TNM dengan klasifikasi Dukes.⁽³⁶⁾

Stage	AJCC/UICC			Comparison to Duke' and Modified Astler-Coller classifications
	Tumor	Regional Lymph Nodes	Distant Metastasis	
Stage 0	Tis	N0	M0	--
Stage I	T1	N0	M0	Dukes A or Modified Astler-Coller A and B1
	T2	N0	M0	

<i>Stage IIA</i>	T3	N0	M0	Dukes B or Modified Astler-Coller B2
<i>Stage IIB</i>	T4	N0	M0	Dukes B or Modified Astler-Coller B3
<i>Stage IIIA</i>	T1-T2	N1	M0	Dukes C or Modified Astler-Coller C1
<i>Stage IIIB</i>	T3-T4	N1	M0	Dukes C or Modified Astler-Coller C2-C3
<i>Stage IIIC</i>	Any T	N2	M0	Dukes C or Modified Astler-Coller C1-C3
<i>Stage IV</i>	Any T	Any N	M1	Dukes -- Modified Astler-Coller D

2.3.7 DERAJAT DIFFERENSIASI

Ada berbagai macam tipe histopatologi dari karsinoma kolorektal, yang paling sering adalah *adenokarsinoma*. *Adenokarsinoma* dibagi menjadi 3 *grading* berdasarkan pengamatan pada pengaturan sel terhadap derajat formasi tubular (acinar)

Grade I (low grade atau *well-differentiated*) dimana komposisinya semuanya masih merupakan *well-formed glands*, dimana polaritas nukleusnya dapat dilihat dan bentuk nukleus masih sama. *Grade II (average grade* atau *moderately differentiated*) dimana komposisinya terdiri dari sel-sel maligna yang bercampur dengan kelenjar, tubulus masih sederhana, kompleks atau sedikit irregular; polaritas nukleus hampir tidak dapat dilihat atau hilang. *Grade III (poorly differentiated)* ditunjukkan dengan tidak adanya diferensiasi glandular, begitu juga hilangnya polaritas nukleus. Lima belas persen sampai 20% karsinoma

kolorektal pada *grade* I, pada *grade* II 60-70%, sedangkan 15-20% karsinoma pada *grade* III.^(30,31)

Tabel 2.6. Tipe histopatologi karsinoma kolorektal..^(30,31)

Well-differentiated adenocarcinoma
Moderately differentiated adenocarcinoma
Poorly differentiated adenocarcinoma
Colloid carcinoma
Signet ring cell carcinoma
Carcinoma with squamous metaplasia (adenoacanthoma)
Adenosquamous carcinoma
Squamous carcinoma
Small cell carcinoma
Carcinoma dengan gambaran choriocarcinomatous
Carcinoma dengan metaplasia osseus
Microglandular carcinoma
Carcinoma dengan psammoma bodies
Clear cell carcinoma
Carcinoma dengan gambaran campuran

2.3.8 PROGNOSIS

Prognosis karsinoma kolorektal berhubungan dengan sejumlah parameter klinis dan patologis yaitu .⁽³²⁾

a. Umur

Penderita usia sangat muda dan sangat tua berhubungan dengan prognosis yang jelek.

b. Jenis kelamin

Prognosis lebih baik pada wanita daripada laki-laki

c. Lokasi

Faktor ini masih kontroversial. Pada suatu studi, tumor pada kolon kiri memberikan prognosis yang lebih baik daripada tumor sigmoid

dan rektum. Studi lain dengan *follow-up* yang lama, lebih besar kemungkinan pada tumor kolon kiri untuk terjadi rekurensi.

d. Jumlah tumor

Angka harapan hidup pasien dengan *sinkronus* atau *metakronus* keganasan usus besar sama dengan pasien dengan karsinoma kolorektal tunggal.

e. Ekstensi lokal

Prognosis bagus bila karsinoma fokal secara mikroskopik ditemukan pada polip. Begitu juga bila tumor yang terbatas pada mukosa dan submukosa. Diantara tumor yang bermetastase pada kelenjar getah bening regional, prognosis lebih buruk daripada tumor yang masih menginfiltrasi dinding usus saja.

f. Ukuran

Meskipun terdapat korelasi antara ukuran tumor dengan prognosis, penggunaannya sebagai indikator prognosis masih belum dipercaya. Terdapat sedikit hubungan antara ukuran tumor dengan insidens metastase kelenjar.

g. Obstruksi

Hal ini merupakan indikator prognostik yang jelek pada *Dukes' staging* di beberapa studi.

h. Perforasi

Perforasi terjadi karena invasi tumor yang ekstensif pada dinding usus yang berhubungan dengan prognosis yang jelek. Pada studi yang dilakukan oleh Welch dan Donaldson, tidak ada kesembuhan bila sudah terjadi perforasi pada *cavum peritoneum*.

i. Tipe mikroskopik dan *grading*

Terdapat hubungan antara *grading* mikroskopik tumor dan prognosisnya. Diantara subtype mikroskopik, karsinoma musinus, karsinoma *small cell*, dan karsinoma *signet ring* mempunyai prognosis yang jelek.

j. Sel endokrin

Pada satu studi, karsinoma kolorektal yang mengandung sel endokrin lebih agresif. Hal ini jelas pada stadium C dimana didapatkan banyak sel ini. Akan tetapi pada studi lain tidak menunjukkan korelasi

k. *Mucin related antigen*

Karsinoma kolorektal yang mengekspresi *mucin-associated antigen sialosyl-Tn* dan *sialyl Lewis antigen* menunjukkan gambaran klinis yang lebih agresif.

i. Ekspresi HLA-DR

Pada pasien dengan tumor yang menunjukkan ekspresi LA-DR yang kuat menunjukkan harapan hidup yang baik.

m. Batas tumor

Karsinoma dengan batas tumor dan jaringan sekitarnya dikelilingi oleh infiltrat inflamasi mempunyai prognosis yang lebih baik.

n. Reaksi inflamasi

Infiltrasi stroma tumor oleh eosinofil dan *S-100 protein-positive dendritic cells* berhubungan dengan prognosis yang lebih baik.

o. Invasi vaskuler dan perineural

Jika didapatkan invasi vena, harapan hidup 5 tahun menurun bermakna. Invasi perineural merupakan tanda penyakit dengan

stadium tinggi. Invasi pembuluh limfe lebih sedikit maknanya, tetapi hal ini menunjukkan faktor prognostik yang jelek bila didapatkan pada stadium III

p. Kelenjar limfe

Sekali tumor menyebar pada kelenjar limfe, angka harapan hidup 5 tahun menurun drastis. Lokasi dan luasnya metastase kelenjar limfe. Semakin banyak jumlah metastase kelenjar, prognosis semakin jelek. Pada suatu studi, jika lebih dari enam metastase kelenjar limfe, kurang dari 10% pasien selamat lebih dari 5 tahun. Jika lebih dari 16 metastase kelenjar limfe mesenterium, semua pasien meninggal dalam periode 5 tahun. Tidak ada korelasi antara ukuran tumor dengan derajat metastase kelenjar limfe.

q. *Staging Dukes*

Merupakan gabungan kriteria ekstensi lokal dan metastase kelenjar limfe telah terbukti sebagai suatu cara yang ampuh dalam memprediksi prognosis pasien.

r. Pola reaksi kelenjar limfe

Pasien karsinoma kolorektal dengan kelenjar limfe regional yang menunjukkan adanya *cell-mediated* respon imun (tampak dgn peningkatan jumlah *immunoblast* dan/atau sinus histiositosis) lebih lama hidupnya daripada kelenjar yang tidak menampilkan hal tersebut.

s. *DNA ploidy*

Flow sitometri ditemukan berhubungan dengan *staging Dukes* dan *grading* differensiasi. Secara umum tumor menunjukkan homogen

dalam pola DNANYa dan beberapa studi menunjukkan adanya hubungan antara aneuploidi dan resiko rekuren atau harapan hidup, khususnya tumor rektum. Tapi hal ini masih kontroversial o

t. Proliferasi sel

Determinasi fraksi fase S menunjukkan hubungan dengan harapan hidup pada satu studi, tetapi tidak pada studi lain o

u. Hilangnya allel kromosom 18q

Perubahan karyotipik menunjukkan prognostik yang jelek o

v. Ekspresi onkogen

Mutasi K-ras pada tempat kodon tertentu ditemukan pada pasien dengan penyakit rekuren. Pada suatu studi, tumor dengan *Overexpression* p53 menunjukkan resiko relatif lebih besar untuk terjadinya mortalitas.

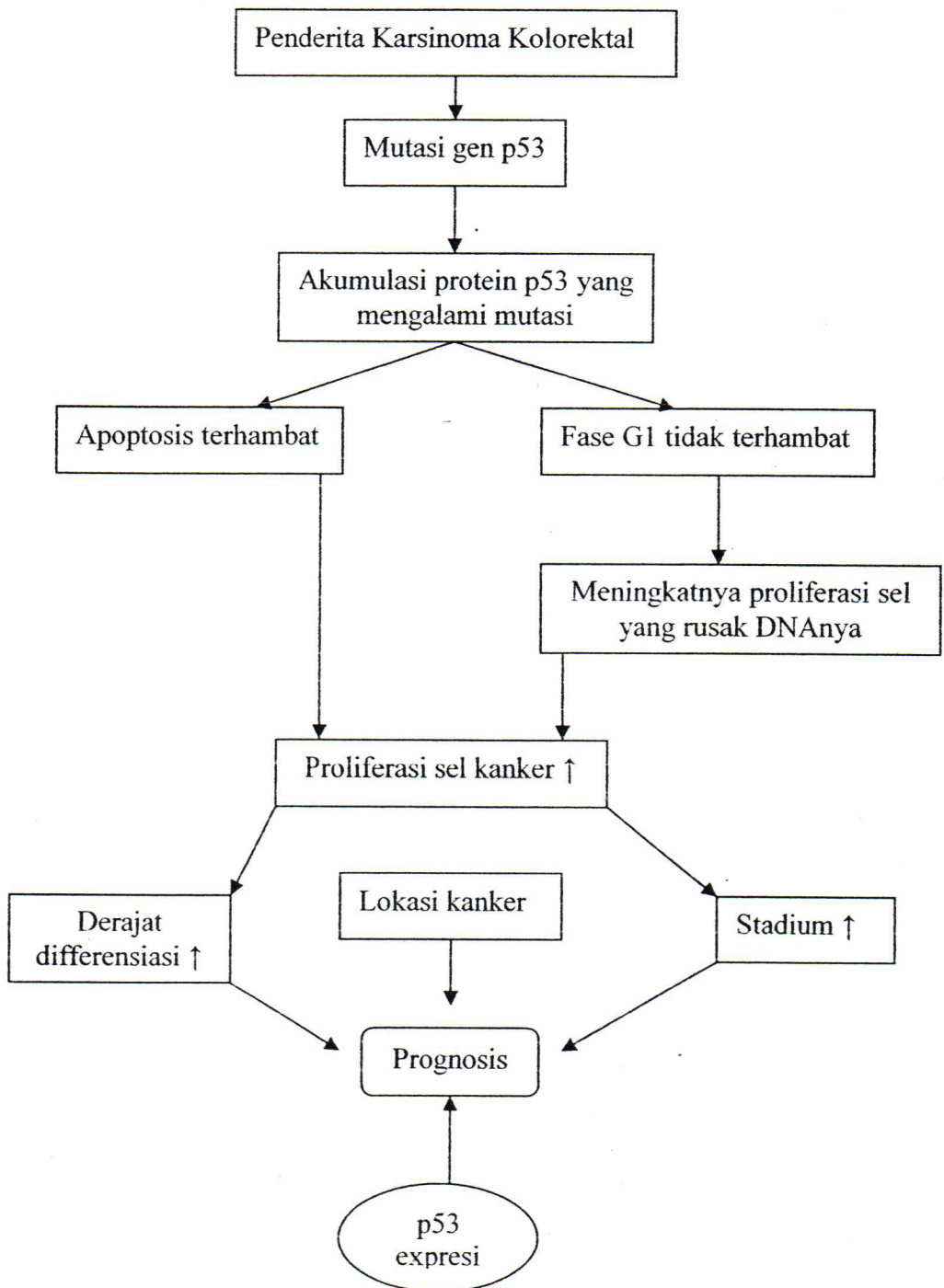
Tabel 2.7. Angka harapan hidup karsinoma kolorektal dengan klasifikasi modifikasi Dukes. ⁽³⁰⁾

Stadium	Harapan hidup 5 tahun (%)
A	98.9
B	84.9
C	67.3
D	14.3

BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 KERANGKA KONSEPTUAL



3.2 HIPOTESIS

1. Adanya korelasi positif antara ekspresi p53 dengan stadium klinis karsinoma kolorektal.
2. Adanya korelasi positif antara ekspresi p53 dengan derajat diferensiasi karsinoma kolorektal.
3. Adanya korelasi positif antara ekspresi p53 dengan lokasi karsinoma kolorektal

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 RANCANGAN PENELITIAN

Pengamatan dilakukan dengan sesaat pada variabel-variabel yang peristiwanya sudah terjadi. Rancangan penelitian yang digunakan adalah observasional analitik dengan pendekatan *cross sectional*, dengan tingkat kemaknaan $p < 0,05$

4.2 POPULASI

Populasi penelitian adalah semua blok parafin yang tersimpan di laboratorium Patologi Anatomi yang secara klinis dan histopatologis menunjukkan gambaran karsinoma kolorektal.

4.3. SAMPEL

Sampel penelitian adalah blok parafin penderita yang telah dioperasi di RSUD dr. Soetomo Surabaya dan beberapa rumah sakit swasta di Surabaya selama periode Agustus 2004 – Maret 2005 yang secara klinis dan histopatologis menunjukkan karsinoma kolorektal.

4.4 BESAR SAMPEL

Besarnya sampel ditentukan menurut perhitungan berdasarkan proporsi karena populasi tidak diketahui, dimana rumusnya adalah :

$$n = \frac{[Z\alpha \cdot \sqrt{2p(1-p)} + Z\beta \cdot \sqrt{p_1(1-p_1) + p_2(1-p_2)}]^2}{(p_1 - p_2)^2}$$

n = besar sampel

$Z_{\alpha} 0,05$ = 1,96

$Z_{\beta} 0,20$ = 0,842

Besar sampel untuk variabel derajat diferensiasi adalah :

p_1 = proporsi peningkatan ekspresi p53 pada derajat diferensiasi rendah karsinoma kolorektal sebesar 0,11

p_2 = proporsi peningkatan ekspresi p53 pada derajat diferensiasi tinggi karsinoma kolorektal sebesar 0,52

$$p = \frac{p_1 + p_2}{2} = \frac{0,11 + 0,52}{2} = 0,315$$

$$n = \frac{\left[1,96 \cdot \sqrt{2 \times 0,315(1 - 0,315)} + 0,842 \cdot \sqrt{0,11(1 - 0,11) + 0,52(1 - 0,52)} \right]^2}{(0,11 - 0,52)^2} = 18,93$$

Besar sampel untuk variabel stadium adalah :

p_1 = proporsi peningkatan ekspresi p53 pada stadium rendah karsinoma kolorektal sebesar 6%

p_2 = proporsi peningkatan ekspresi p53 pada stadium tinggi karsinoma kolorektal sebesar 27%

$$p = \frac{p_1 + p_2}{2} = \frac{0,06 + 0,27}{2} = 0,165$$

$$n = \frac{[1,96 \cdot \sqrt{2 \times 0,165(1 - 0,165)} + 0,842 \cdot \sqrt{0,06(1 - 0,06) + 0,27(1 - 0,27)}]^2}{(0,06 - 0,27)^2} = 64,33$$

Besar sampel untuk variabel lokasi tumor adalah :

p_1 = proporsi peningkatan ekspresi p53 pada colon proximal
karsinoma kolorektal sebesar 0,32

p_2 = proporsi peningkatan ekspresi p53 pada colon distal
karsinoma kolorektal sebesar 0,58

$$p = \frac{p_1 + p_2}{2} = \frac{0,32 + 0,58}{2} = 0,45$$

$$n = \frac{[1,96 \cdot \sqrt{2 \times 0,45(1 - 0,45)} + 0,842 \cdot \sqrt{0,32(1 - 0,32) + 0,58(1 - 0,58)}]^2}{(0,32 - 0,58)^2} = 46,3$$

Karena kasus yang tidak banyak dan waktu yang membatasi maka kami mengambil total sampling mulai bulan Agustus 2004 – Maret 2005 sebanyak 59 penderita.

4.5 PENGAMBILAN SAMPEL

Sampel dipilih berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi pada masa pengambilan sampel mulai bulan Agustus 2004 – Maret 2005

4.6 KRITERIA INKLUSI

1. Kasus primer
2. Blok parafin karsinoma kolorektal yang tersimpan dengan baik (maximal 4 bulan terakhir sebelum dilakukan pengecatan imunohistokimia)

4.7 KRITERIA EKSKLUSI

1. Didapatkan keganasan pada organ lain.
2. Penderita yang telah mendapat terapi radiasi atau kemoterapi sebelumnya
3. Blok parafin karsinoma kolorektal rusak atau telah disimpan lebih dari 4 bulan

4.8 VARIABEL PENELITIAN

Pada penelitian ini variabel yang diteliti adalah :

1. Ekspresi p53
2. Derajat diferensiasi
3. Stadium klinis/patologis
4. Lokasi

Variabel bebas adalah ekspresi p53 sedangkan variabel tergantung adalah derajat diferensiasi, stadium dan lokasi.

4.9 DEFINISI OPERASIONAL VARIABEL PENELITIAN

1. Ekspresi p53

Mutant type p53 yang dihasilkan dari gen p53 yang mengalami mutasi, ekspresinya dapat dilihat dengan menggunakan pemeriksaan imunohistokimia metode *Labelled Avidin Biotin (LAB)* dengan antibodi p53 klon DO7 (DAKO) dimana cara menghitung 1 lapangan pandang yang representatif dengan

mikroskop cahaya pembesaran 10 x 10 dimana tingkat ekspresi sel dilihat dari prosentase sel yang positif dihitung berdasarkan :

$$\frac{\text{Jumlah sel yang positif}}{\text{Jumlah semua sel kanker}} \times 100 \%$$

Sel yang positif berwarna merah coklat pada inti, sedang sel yang negatif berwarna biru pada inti. Ekspresi ini digolongkan menjadi 2 bagian yaitu :

- a. *lack of expression* jika hasilnya negatif (0) atau ekspresi ringan (< 10%)
- b. *overexpression* jika ekspresi sedang (10-49 %) atau ekspresi berat (≥ 50%).

2. Diagnosis histopatologi

Diagnosis yang didapat dari hasil pemeriksaan sediaan / preparat karsinoma kolorektal dengan pulasan Hemotoksilin Eosin.

3. Derajat diferensiasi :

Gradasi perubahan bentuk dan karakter sel serta arsitektur jaringan yang diperiksa dari sediaan pulasan HE dengan pembesaran 100x dan 400x memakai mikroskop cahaya. Penilaian dikelompokkan menjadi :

- a. *well differentiated.*
- b. *moderate differentiated.*
- c. *poorly differentiated.*

Untuk jenis patologi seperti *Mucinus carcinoma* atau *signet ring cell carcinoma* dimasukkan ke kelompok *poorly differentiated* karena prognosanya sama dengan *poorly differentiated*

4. Stadium klinis/patologis

Merupakan salah satu cara untuk mengelompokkan karsinoma kolorektal berdasarkan topografi atau luas ekstensi dari karsinoma itu. Dalam hal ini dipakai sistem TNM sesuai dengan AJCC dan UICC. Dalam penelitian ini dibagi menjadi 4 kelompok :

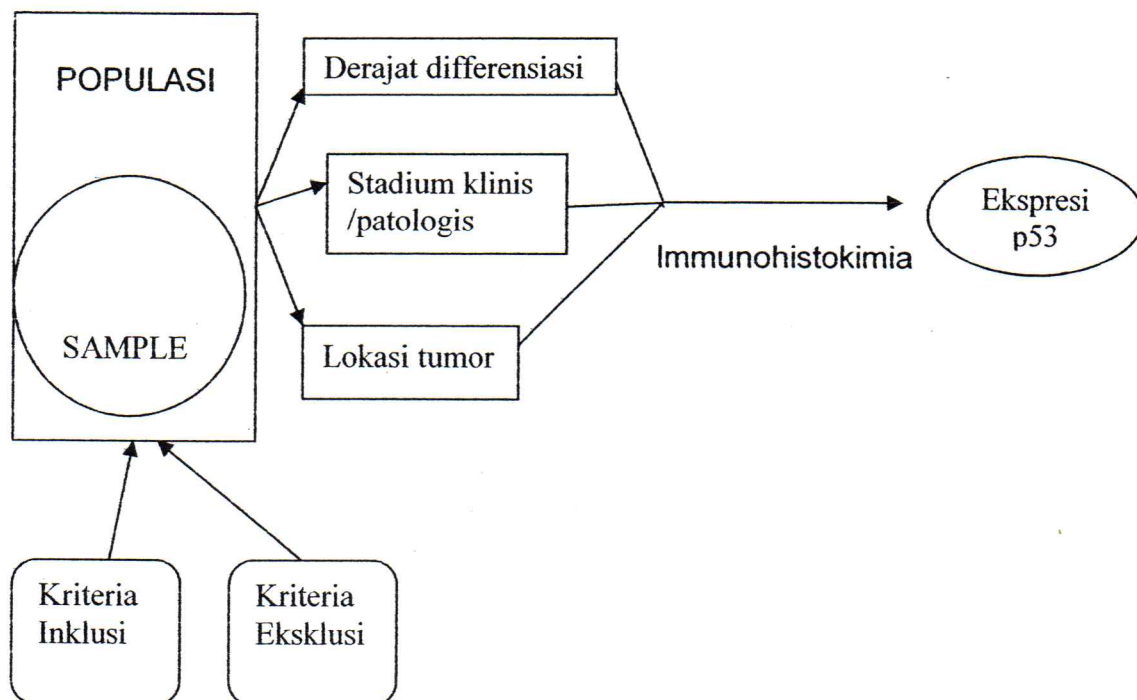
- a. Stadium I
- b. Stadium II
- c. Stadium III
- d. Stadium IV

5. Lokasi :

Tempat tumor ditemukan pada saat pembedahan. Dibagi menjadi 3 kelompok:

- a. Kolon kanan : Sekum, kolon asendens, fleksura hepatica dan kolon transversum.
- b. Kolon kiri : Fleksura lienalis, kolon desendens, kolon sigmoid
- c. Rektum

4.10 KERANGKA OPERASIONAL



4.11 LOKASI DAN WAKTU PENELITIAN

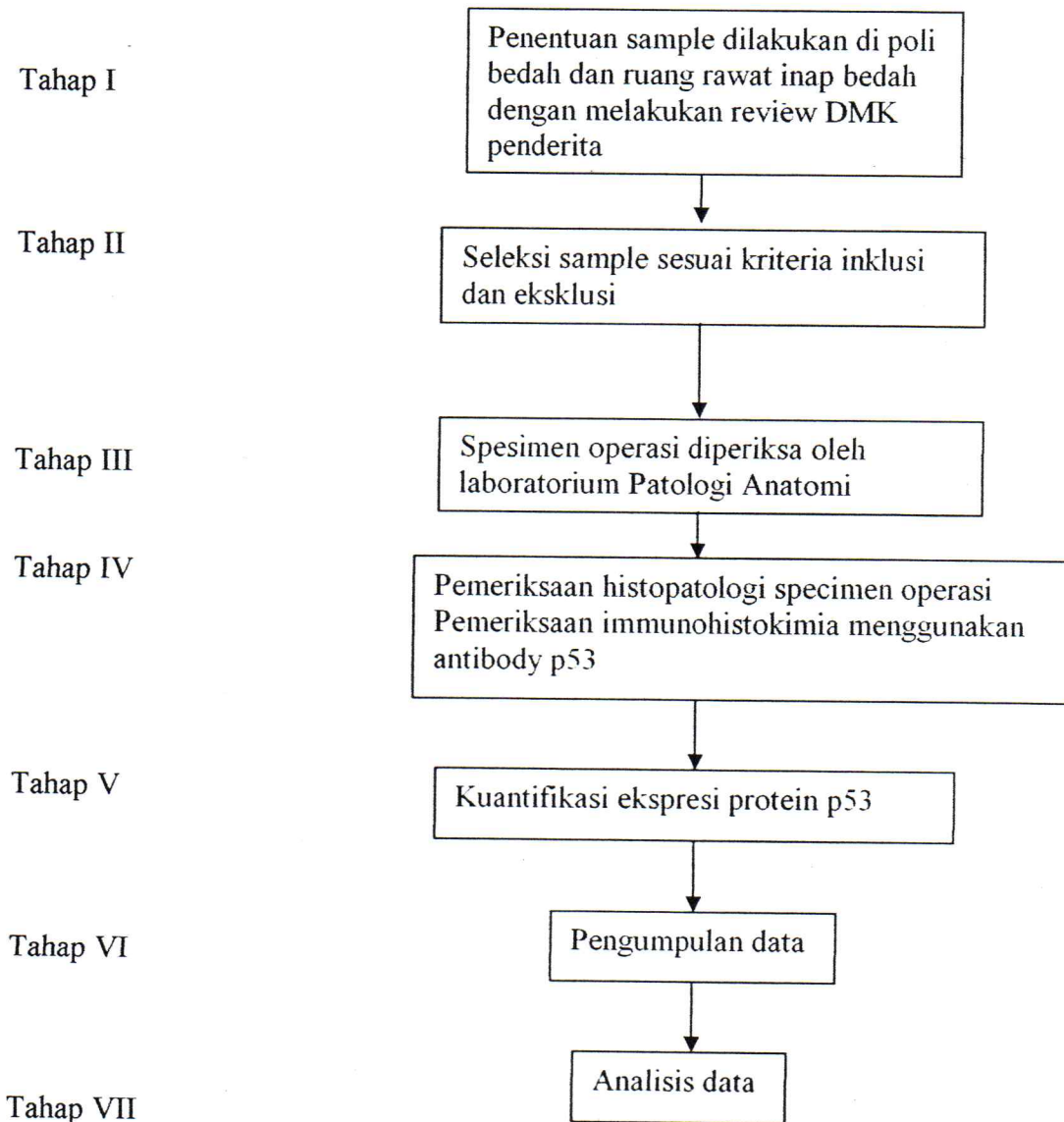
4.11.1 Lokasi

Dilakukan di ruang inap bedah dan laboratorium Patologi Anatomi RSUD
dr.Soetomo

4.11.2 Waktu penelitian

Selama 6 bulan mulai bulan Agustus 2004 - Maret 2005

4.12 TAHAP PENELITIAN



4.13 ANALISA DATA

Analisa data			Uji statistik
Korelasi ekspresi p53 dengan	Stadium	Skala Ordinal	Uji korelasi Spearman
	Derajat diferensiasi	Skala Ordinal	Uji korelasi Spearman
	Lokasi tumor	Skala Nominal	Uji Korelasi Kontigensi

BAB 5

HASIL PENELITIAN

Dari bulan September 2004 sampai Maret 2005 terdapat 59 operasi definitif penderita karsinoma kolorektal. Dari 59 penderita tersebut, 36 orang (61%) adalah laki-laki, sisanya 23 orang (39%) adalah perempuan. Umur termuda penderita adalah 28 tahun dan yang tertua adalah 91 tahun dengan usia rata-rata $55,49 \pm 12,083$ tahun. Penderita terbanyak pada usia 62 tahun sebanyak 5 orang dan bila dikelompokkan dengan interval umur maka penderita terbanyak berusia 41-50 tahun sebanyak 20 orang (33,90%).

Tabel 5.1. Karakteristik penderita

	Penderita (n=59)	Prosentase (%)
1. Jenis kelamin		
Laki - laki	36	61
Perempuan	23	39
2. Umur		
Termuda	28	
Tertua	91	
Terbanyak	62	
21 - 30 tahun	2	3,39
31 - 40 tahun	4	6,78
41 - 50 tahun	20	33,90
51 - 60 tahun	12	20,34
61 - 70 tahun	14	23,73
71 - 80 tahun	6	10,17
> 80 tahun	1	1,69
Rerata \pm SD	$55,49 \pm 12,803$	

Spesimen diambil dari penderita yang telah dilakukan operasi definitif dan hasil biopsi penderita yang telah dioperasi secara laparotomi tetapi *unresectable*. Kami

unresectable. Kami mendapatkan spesimen dari bahan operasi sebanyak 50 spesimen (84,7%), dan hasil biopsi sebanyak 9 spesimen (15,3%).

Diagnosis penyakit terbanyak adalah karsinoma rektum sebanyak 28 kasus (47,5%) sedangkan yang lain yaitu karsinoma sigmoid sebanyak 9 kasus (15,3%), 8 kasus karsinoma kolon asenden (13,6%), 6 kasus karsinoma kolon desenden (10,2%), 3 kasus karsinoma kolon transversum (5,1%), 2 kasus karsinoma rektosigmoid (3,4%), 2 kasus karsinoma sekum (3,4%) dan 1 kasus karsinoma kolon fleksura lienalis (1,7%).

Tabel 5.2. Karakteristik Histopatologi

	Penderita (n=59)	Prosentase (%)
1. Spesimen		
Operasi	50	84,7
Biopsi	9	15,3
2. Lokasi karsinoma		
Sekum	2	3,4
Kolon asenden	8	13,6
Kolon transversum	3	5,1
Kolon flexura lienalis	1	1,7
Kolon desenden	6	10,2
Sigmoid	9	15,3
Rektosigmoid	2	3,4
Rektum	28	47,5
3. Diagnosa PA		
Adenokarsinoma	49	83
Musinus karsinoma	9	15,3
Signet ring cell karsinoma	1	1,7
4. Derajat differensiasi		
Well-differentiated	24	40,7
Moderate-differentiated	16	27,1
Poorly-differentiated	9	15,3
5. Stadium		
Stadium I	1	1,7
Stadium II	26	44,1
Stadium III	29	49,2
Stadium IV	3	5,1

Dua puluh sembilan kasus (49,2%) didapatkan penderita datang pada stadium III. Pada stadium I hanya didapatkan 1 kasus (1,7%) yaitu pada penderita karsinoma rektum. Sebanyak 26 kasus (44,1%) didapatkan pada stadium II sedangkan stadium IV didapatkan 3 kasus (5,1%).

Jenis histopatologi terbanyak tetap merupakan suatu adenokarsinoma yaitu pada 49 kasus (83%), sedang jenis yang lain adalah *musinus* karsinoma sebanyak 9 kasus (15,3%) dan 1 kasus *signet ring cell* karsinoma (1,7%). Bila dilihat dari grading histopatologi adenokarsinoma maka yang paling banyak didapatkan adalah tipe *well differentiated* (40,7%). Tipe *moderate differentiated* didapatkan pada 27,1% kasus dan tipe *poorly differentiated* sebanyak 15,3% kasus.

Dari 59 spesimen yang didapatkan, kita melakukan pengecatan imunohistokimia. Spesimen yang dapat dinilai sebanyak 54 spesimen, sedangkan 5 spesimen tidak dapat dinilai karena tumor tidak didapatkan pada blok yang dibuat, pengecatan yang jelek. Kami mendapatkan 3 spesimen (5,6%) dengan hasil ekspresi negatif, 19 spesimen dengan hasil ekspresi ringan (35,2%), 13 spesimen dengan hasil ekspresi sedang, 19 spesimen dengan hasil ekspresi berat (35,2%). Bila dikelompokkan ekspresi p53-nya, yang menunjukkan *lack of expression* sebanyak 22 spesimen (40,7%) dan *over expression* sebanyak 32 spesimen (59,3%).

Tabel 5.3. Hasil pengecatan imunohistokimia

	Penderita (n=54)	Persentase (%)
1. <i>Lack of expression</i> (n=22)		
<i>Negative</i>	3	5,6
<i>Ringan</i>	19	35,2
2. <i>Over expression</i> (n=32)		
<i>Sedang</i>	13	24,1
<i>Berat</i>	19	35,2

Berdasarkan kelompok derajat differensiasinya, 20 penderita dengan *well differentiated* menunjukkan *lack of expression* pada 11 penderita (20,4%) sedangkan sisanya, 9 (16,7%) penderita menunjukkan *over expression*. Pada pasien dengan *moderate differentiated*, 8 penderita (14,9%) dengan *lack of expression* dan 8 penderita (14,9 %) dengan *over expression*. Dari 18 penderita dengan *poorly differentiated*, 3 penderita (5,6%) menunjukkan *lack of expression* dan sisanya *over expression* (27,8%). Pada hasil pengecatan yang *over expression*, prosentase terbesar pada pasien dengan *poorly differentiated* (27,8%) sedangkan pada hasil yang *lack of expression*, prosentase terbesar pada pasien dengan *well differentiated* (20,4%).

Tabel 5.4. Distribusi ekspresi p53 menurut derajat differensiasi

	Well Differentiated (n=20)	Moderate Differentiated (n=16)	Poorly Differentiated (n=18)
1. Lack of expression (n=22)			
<i>Negative</i>	2 (3,7%)	1 (1,9%)	0 (0%)
<i>Ringan</i>	9 (16,7%)	7 (13,0%)	3 (5,6%)
2. Over expression (n=32)			
<i>Sedang</i>	5 (9,3%)	2 (3,7%)	6 (11,1%)
<i>Berat</i>	4 (7,4%)	6 (11,1%)	9 (16,7%)

Dari hasil analisa statistika dengan menggunakan uji korelasi Spearman, didapatkan korelasi antara ekspresi p53 dengan peningkatan derajat differensiasi karsinoma kolorektal, $p = 0,012$ ($p < 0,05$) dengan koefisien korelasi 0,338.

Berdasarkan stadium penyakitnya, hanya didapatkan 1 penderita stadium I dan menunjukkan *lack of expression*. Pada stadium II, *over expression* ditunjukkan pada 9 penderita (16,7%) sedangkan 15 penderita (27,8%) menunjukkan *lack of expression*. Pada stadium III, prosentase penderita yang menunjukkan *over*

expression meningkat dibandingkan pada stadium II yaitu 37% (20 penderita). Sedangkan pada stadium IV, kesemuanya yaitu 3 penderita menunjukkan *over expression* (5,6%). Bila dilihat masing-masing stadium, sesuai dengan peningkatan stadium, ekspresi p53 juga terlihat meningkat. Pada stadium I, 100% *lack of expression*; pada 24 penderita stadium II, 62,5% menunjukkan hasil *lack of expression*; pada 26 penderita stadium III, 76,9% menunjukkan hasil *over expression* sedang pada stadium IV 100% menunjukkan *over expression*.

Tabel 5.5. Distribusi ekspresi p53 menurut stadium penyakit

	Stadium I (n=1)	Stadium II (n=24)	Stadium III (n=26)	Stadium IV (n=3)
1. <i>Lack of expression</i> (n=22)				
<i>Negative</i>	0 (0%)	2 (3,7%)	1 (1,9%)	0 (0%)
<i>Ringan</i>	1 (1,9%)	13 (24,1%)	5 (9,3%)	0 (0%)
2. <i>Over expression</i> (n=32)				
<i>Sedang</i>	0 (0%)	4 (7,4%)	8 (14,8%)	1 (1,9%)
<i>Berat</i>	0 (0%)	5 (9,3%)	12 (22,2%)	2 (3,7%)

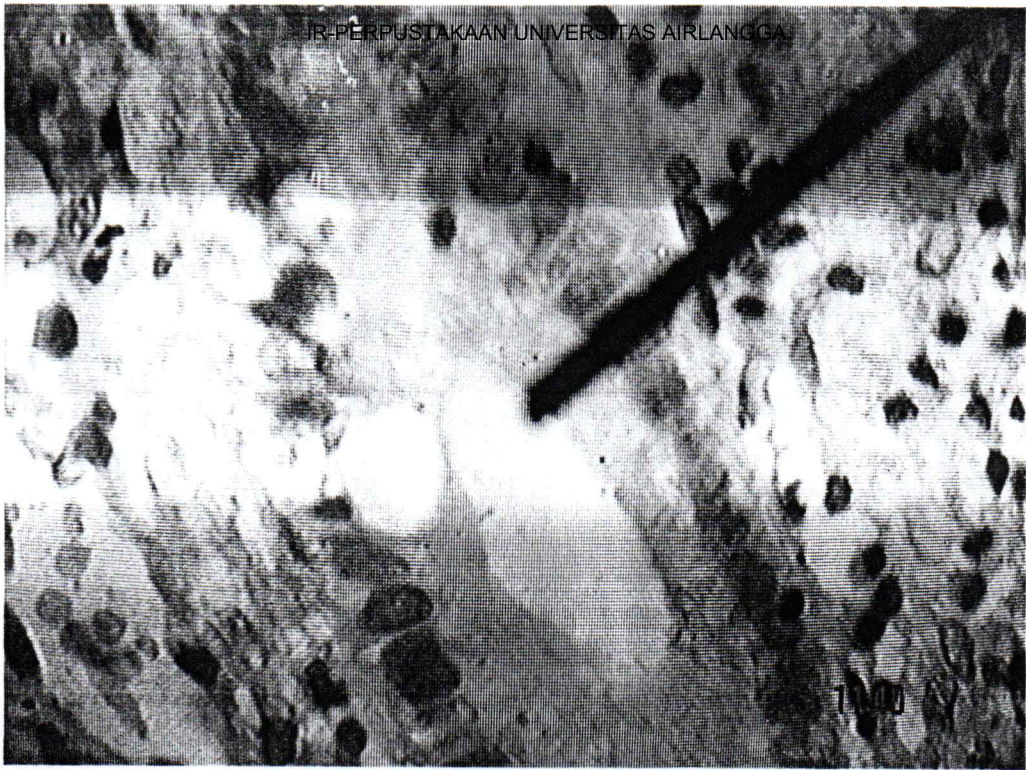
Dari analisa statistika dengan uji korelasi Spearman didapatkan bahwa terdapat korelasi antara ekspresi p53 dengan peningkatan stadium penyakit, $p = 0,001$ ($p < 0,01$) dengan koefisien korelasi 0,424.

Berdasarkan lokasi tumornya, sebanyak 40,8% penderita menunjukkan *lack of expression* yang terdiri dari 5 penderita (9,3%) pada kolon kanan, 8 penderita (16,7%) pada kolon kiri dan 9 penderita (16,7%) pada rektum. Sedangkan sisanya 59,2% menunjukkan *over expression* yaitu 7 penderita (13%) pada kolon kanan, 8 penderita (14,9%) pada kolon kiri dan 17 penderita (21,5%) pada rektum. *Over expression* didapatkan paling banyak pada daerah rektum (65,38%) dibandingkan dengan kolon (53,57%).

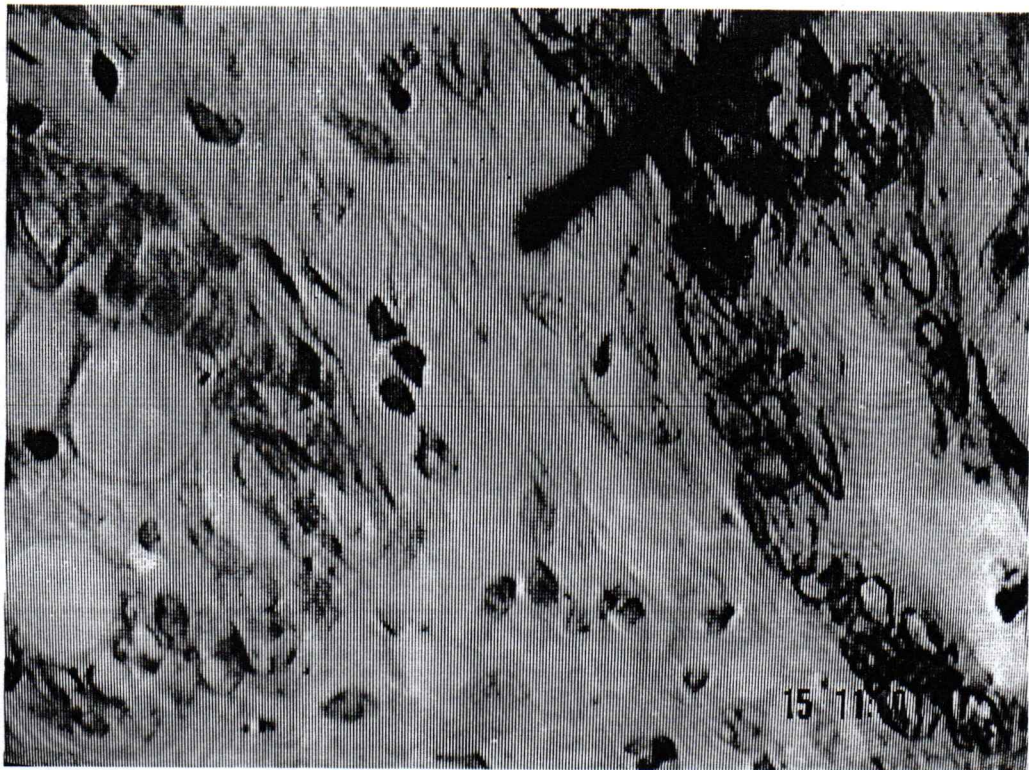
Dari analisa statistika dengan uji korelasi Spearman, tidak didapatkan korelasi antara ekspresi p53 dengan lokasi tumor, $p = 0,614$ ($p > 0,05$) dengan besar korelasinya adalah 0,133.

Tabel 5.6. Distribusi ekspresi p53 menurut lokasi tumor

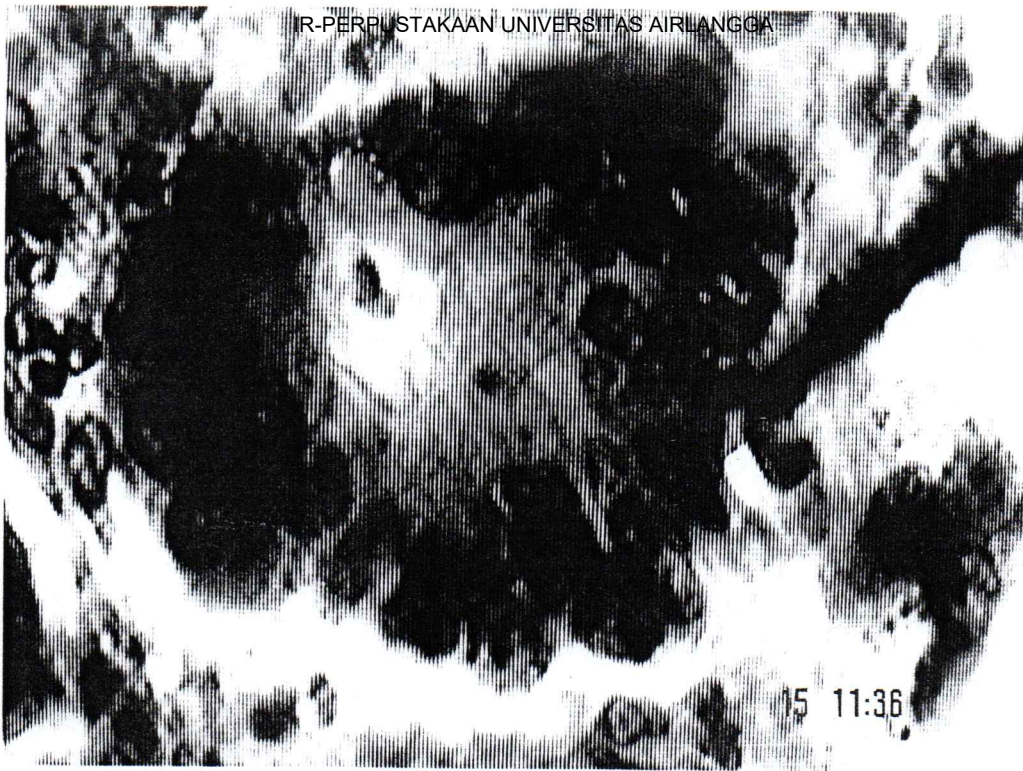
	Kolon kanan (n=12)	Kolon kiri (n=16)	Rektum (n= 26)
1. Lack of expression (n=22)			
Negative	1 (1,9%)	0 (1,9%)	2 (3,7%)
Ringan	4 (7,4%)	8 (14,8%)	7 (13%)
2. Over expression (n=32)			
Sedang	1 (1,9%)	5 (9,3%)	7 (13%)
Berat	6 (11,1%)	3 (5,6%)	10 (18,5%)



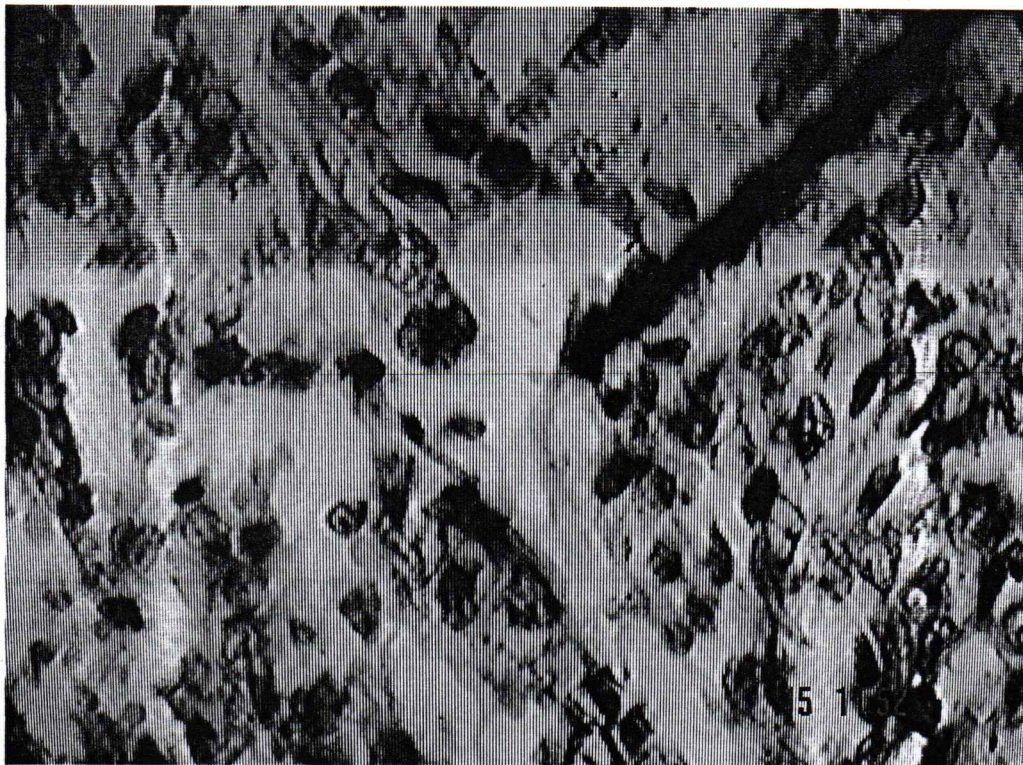
Gambar 5.1 Sel-sel kelenjar normal yang negatif dengan pengecatan protein p53 dan dianggap sebagai kontrol. (T 0785/05, pembesaran 400x dengan mikroskop Olympus)



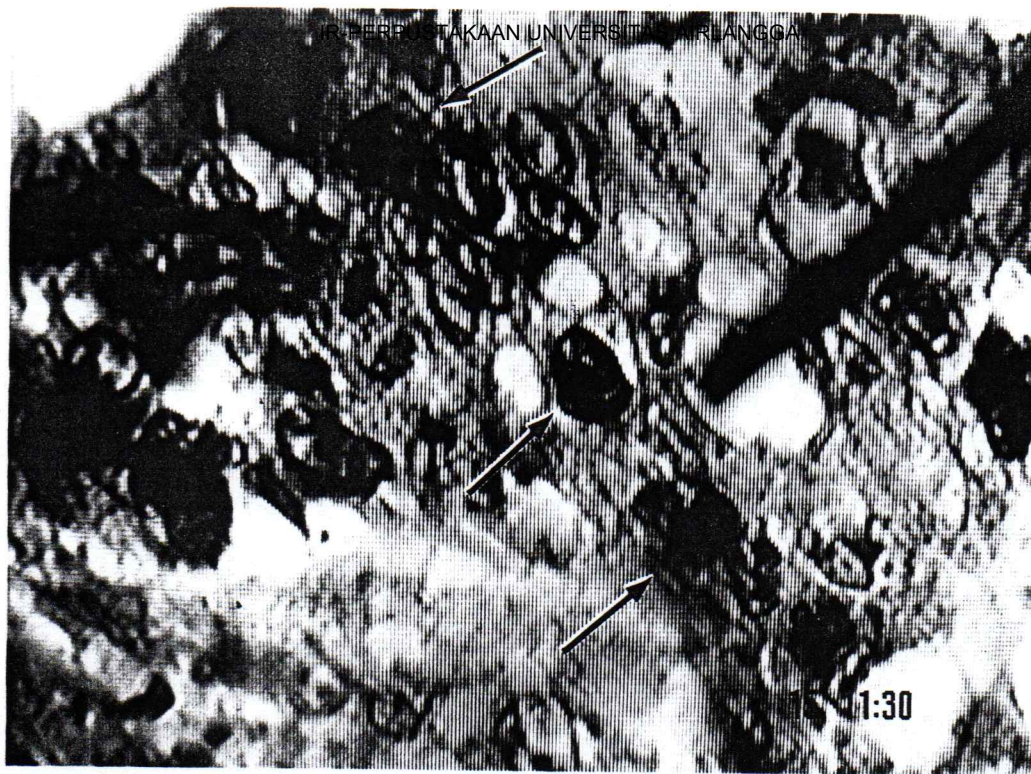
Gambar 5.2 Tampak sel-sel tumor yang menunjukkan ekspresi positif dengan protein p53 (sebelah kanan) sedang pada sebelah kiri tampak sel-sel tumor yang tidak menunjukkan ekspresi dengan protein p53 pada karsinoma kolorektal *well differentiated*. (T 0297/05, pembesaran 400x dengan mikroskop Olympus)



Gambar 5.3 Tampak sel-sel tumor positif dengan p53 pada inti dari karsinoma kolorektal *moderate differentiated* (PA 041015, pembesaran 400x dengan mikroskop Olympus).



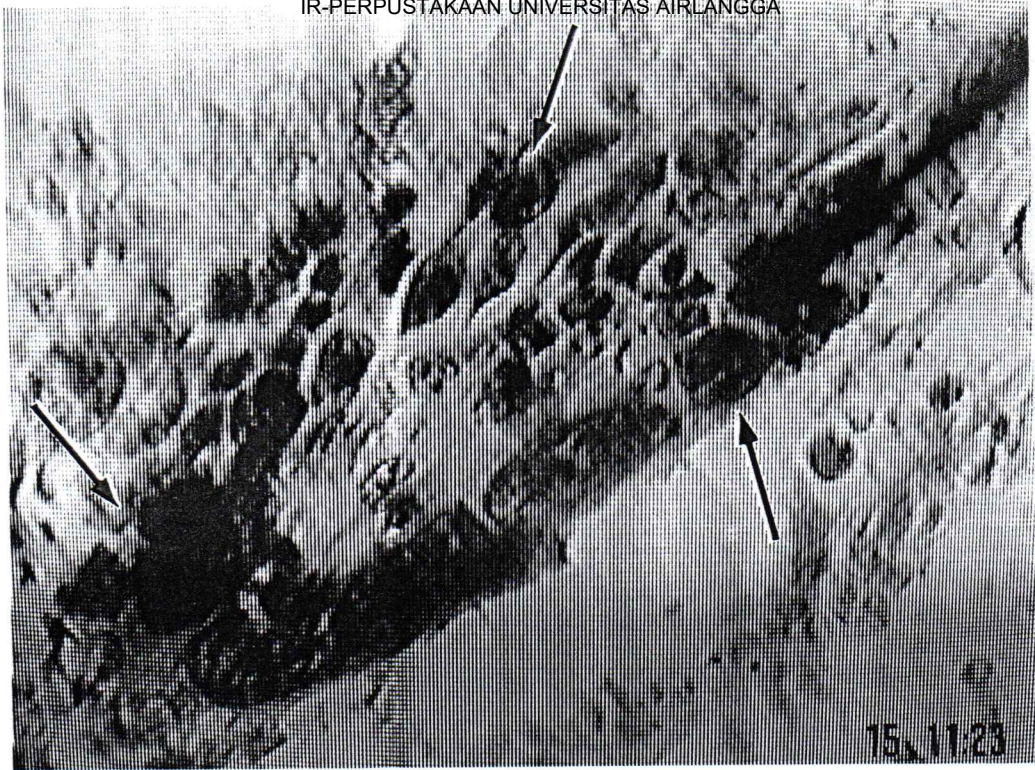
Gambar 5.4 Sel-sel tumor kolorektal yang tidak menunjukkan ekspresi p53 pada karsinoma kolorektal *well differentiated*. (T 0785/05, pembesaran 400x dengan mikroskop Olympus)



Gambar 5.5 Beberapa inti sel tumor menunjukkan ekspresi positif dengan p53 pada karsinoma kolorektal *moderate differentiated* (PA 041115, pembesaran 400x dengan mikroskop Olympus)



Gambar 5.6 Inti sel tumor yang menunjukkan ekspresi protein p53 dengan intensitas sedang sampai kuat pada karsinoma kolorektal *moderate differentiated* (PA 041102, pembesaran 400x dengan mikroskop Olympus)



Gambar 5.7 Tampak inti sel tumor yang menunjukkan intensitas kuat dengan protein p53 pada karsinoma kolorektal *moderate differentiated* (PA 040/34, pembesaran 400x dengan mikroskop Olympus).

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 Gambaran umum variabel penelitian

Dari 54 pasien yang kami dapatkan mulai bulan Agustus 2004 sampai Maret 2005, pasien laki-laki lebih banyak daripada pasien perempuan dimana 61% pasien laki-laki. Pada penelitian deskriptif retrospektif yang pernah dilakukan di RSUD dr. Soetomo, penderita karsinoma kolorektal pada tahun 2001-2004 paling banyak berjenis kelamin laki-laki (54%) dengan rentang usia paling banyak 31-40 tahun. Data dari American Cancer Society mulai tahun 1997-2001, insidens karsinoma kolorektal pada laki-laki lebih tinggi daripada wanita (63,4% vs 46,4%).⁽³⁷⁾ Rata-rata insidens terjadinya karsinoma kolorektal pada laki-laki berumur 52,2 sedangkan wanita berumur 37,2.⁽¹⁾ Pada penelitian ini didapatkan paling banyak pada penderita berumur 41-50 tahun dengan rerata $55,49 \pm 12,803$.

Kasus yang paling banyak kita dapatkan adalah karsinoma rektum, dimana 47,5% spesimen berasal dari karsinoma rektum. Di RSUD dr. Soetomo mulai tahun 2001-2004, prosentase karsinoma rektum mencapai 56,12% dan merupakan yang paling sering didapat pada karsinoma kolorektal. Di Amerika Serikat tahun 1996, prosentase karsinoma sigmoid paling besar dari semua karsinoma kolorektal sebesar 23%, diikuti karsinoma rektum 18% dan 17% pada karsinoma sekum.⁽¹⁾

Kebanyakan pasien datang pada stadium yang sudah lanjut yaitu stadium III. Pada penelitian ini kami mendapatkan 49,2% penderita datang dengan stadium III. Pada data tahun 2001-2004, didapatkan 34,11% pasien datang pada

stadium III. Hal ini membuktikan kesadaran penderita akan penyakitnya sangat rendah terbukti dengan didapaknya stadium III dan II yang cukup banyak, Selama 6 bulan ini, kami hanya mendapatkan 1 penderita saja yang datang dengan stadium I. Data dari *National Cancer Institute's Surveillance, Epidemiology and End Results* (SEER) di Amerika Serikat mulai tahun 1995-2001, 39% pasien dengan stadium I dan II, 38% pasien dengan stadium III, 19% pasien dengan stadium IV dan 5% pasien tidak dapat ditentukan stadiumnya.⁽³⁸⁾

Spesimen yang kami dapatkan kebanyakan berderajat *well differentiated* (37,04%), sedangkan 33,33% *poorly differentiated* dan sisanya *moderate differentiated*. Data tahun 2001-2004 di RSUD dr. Soetomo, 33,63% merupakan *poorly differentiated*, 27,43% *moderate differentiated*, 24,78% *well differentiated*. Blenkinsopp dkk mengumpulkan data histopatologi dari 2046 pasien didapatkan 26% *well differentiated*, 58% *moderate differentiated* dan 16% *poorly differentiated*.⁽³⁹⁾

Lokasi karsinoma kolorektal yang paling sering adalah pada rektum, dimana pada spesimen yang kami dapat, sebagian besar berasal dari rektum (51,85%), kemudian diikuti kolon kiri dan kolon kanan. Penderita yang datang ke RSUD dr. Soetomo tahun 2001-2004 mayoritas dengan karsinoma rektum (56,12%), kemudian diikuti kolon kiri (25,52%), dan kolon kanan (17,18%). Di Amerika Serikat, lokasi yang paling sering adalah sigmoid, rectum dan sekum. Kecenderungan dalam 25 tahun terakhir, terjadi peningkatan insidens adenokarsinoma pada kolon proksimal dibandingkan insidens karsinoma kolon distal dan rectum.⁽¹⁾

6.2 Korelasi antara ekspresi p53 dengan derajat diferensiasi, stadium dan lokasi karsinoma kolorektal.

Dari 54 spesimen karsinoma kolorektal didapatkan 59,3% yang menunjukkan *overexpression* p53. Diez dkk mengemukakan *overexpression* p53 didapatkan pada 53,1% kasus karsinoma kolorektal.⁽¹²⁾ Prosentase yang didapatkan tidak jauh berbeda dari yang didapat pada penelitian ini. Navarro dkk malah mendapatkan 75% karsinoma kolorektal yang menunjukkan *overexpression* p53.⁽⁷⁾

Bila dilihat dari derajat diferensiasi sel-sel tumornya, prosentase *overexpression* pada kelompok *well differentiated* hanya 45% sedangkan pada kelompok *moderate differentiated*, 50% menunjukkan *overexpression*. *Overexpression* lebih besar prosentasenya pada kelompok *poorly differentiated* sebesar 83,3%. Bila kita analisa semakin berat derajat diferensiasinya maka semakin besar juga sel-sel tumor yang akan memberikan ekspresi protein p53. Kressner dkk dalam penelitiannya hanya mendapatkan 42% ekspresi p53 pada *well differentiated*, pada *moderate differentiated* 51% ekspresi dan 37% pada *poorly differentiated* yang menunjukkan ekspresi p53.⁽¹⁴⁾

Semakin jelek derajat diferensiasinya, mutasi p53 mungkin banyak terjadi sehingga ekspresi protein p53 menjadi lebih meningkat. Dari hasil analisa statistika dengan uji korelasi Spearman rho, hipotesis diterima yaitu terdapat korelasi antara ekspresi p53 dengan derajat diferensiasi karsinoma kolorektal ($p < 0,05$) dengan kekuatan korelasi yang lemah dan bernilai positif. Jadi meskipun dapat disimpulkan bahwa semakin berat derajat diferensiasinya, semakin kuat ekspresi protein p53nya; korelasi yang lemah menunjukkan

bahwa ekspresi protein p53 tidak dapat berdiri sendiri dalam arti kita tidak dapat menggunakannya sebagai faktor penentu tunggal dalam menentukan prognosa penyakit. Iglesias dkk mengemukakan hal senada bahwa terdapat korelasi antara ekspresi p53 dengan derajat diferensiasi karsinoma kolorektal.⁽¹⁵⁾ Tapi hal ini juga tidak sesuai dengan penelitian dari Androver dkk, Kressner dkk dan Erhan dkk yang mengatakan bahwa ekspresi p53 tidak berhubungan dengan derajat diferensiasi karsinoma kolorektal.^(10,14,16)

Pada stadium karsinoma kolorektal, *overexpression* p53 semakin meningkat prosentase seiring dengan meningkatnya stadium klinik. Pada stadium I hanya menunjukkan *lack of expression*, akan tetapi hanya didapatkan 1 spesimen saja pada stadium ini. Pada stadium II, 37,5% menunjukkan *overexpression* dan 76,92% *overexpression* pada stadium III. Pada stadium IV, seluruhnya menunjukkan *overexpression*. Pada penelitian Kressner dkk, 52% menunjukkan ekspresi protein p53 pada pasien dengan stadium I, pada stadium II didapatkan 43% menunjukkan ekspresi protein p53. Sedangkan pada stadium III dan IV, prosentase sel-sel yang menunjukkan ekspresi p53 tidak jauh berbeda (50% vs 54%).⁽¹⁴⁾

Korelasi antara ekspresi p53 dengan stadium karsinoma kolorektal sangat bermakna pada uji korelasi Spearman rho ($p < 0,01$) dengan kekuatan korelasi yang sedang dan bernilai positif. Jadi dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi stadiumnya maka semakin kuat ekspresi protein p53. Hal ini sependapat dengan penelitian yang dikemukakan oleh Iglesias dkk.⁽¹⁵⁾

Lain halnya yang dikatakan Androver dkk dan Erhan dkk bahwa tidak ada korelasi antara *overexpression* p53 dengan stadium^(10,16), namun Sun dkk mengemukakan penelitiannya bahwa frekuensi *overexpression* p53 seiring

dengan peningkatan stadium dan *overexpression* p53 berhubungan dengan *survival* yang jelek.⁽⁴⁾ Penelitian Mehta dkk berbeda dengan penelitian yang lain dimana mereka mengatakan bahwa tidak ada atau rendahnya ekspresi p53 berhubungan dengan angka harapan hidup yang lebih pendek dan *overexpression* p53 berhubungan dengan angka harapan hidup yang lebih lama pada pasien dengan Duke's C.⁽⁹⁾

Erhan dkk mendapatkan juga adanya korelasi antara prosentase sel-sel mengekspresi p53 dengan karsinoma yang telah mengalami metastase dan atau yang mengalami rekurensi. Prosentase sel-sel tumor yang terekspresi mungkin bernilai dalam memprediksi resiko terjadinya rekurensi dan metastase setelah pembedahan kuratif karsinoma kolorektal.⁽¹⁶⁾

Lokasi karsinoma kolorektal paling banyak didapat pada daerah rektum. Bila dibandingkan antara rektum dan kolon, *overexpression* lebih banyak didapatkan pada rektum (65,38% vs 53,57%). Hal senada juga dikemukakan oleh Lenz dkk, Diez dkk dan Erhan dkk dimana *Overexpression* p53 juga lebih sering didapatkan pada tumor pada bagian distal dan dipostulasikan bahwa hal ini merupakan salah satu alasan *survival* yang lebih jelek pada pasien dengan kondisi tersebut.^(12,16) Akan tetapi bila kita lakukan analisa statistika dengan uji korelasi kontigensi, tidak didapatkan korelasi antara ekspresi p53 dengan lokasi tumor ($p < 0,05$). Hal ini bertentangan dengan penelitian Erhan dkk dimana terdapat korelasi ekspresi p53 dengan karsinoma rektum ($p < 0,05$).⁽¹⁶⁾ Ketidacocokan dalam penelitian ini mungkin dapat disebabkan oleh jumlah sampel terhadap lokasi yang kurang besar dan kurang merata distribusinya.

BAB 7**KESIMPULAN DAN SARAN****7.1 KESIMPULAN**

Dari penelitian terhadap 54 penderita karsinoma kolorektal, didapatkan korelasi positif antara ekspresi p53 dengan stadium klinis yang signifikan secara statistika ($p < 0,05$). Didapatkan juga korelasi positif antara ekspresi p53 dengan derajat diferensiasi yang signifikan secara statistika ($p < 0,01$). Selain itu tidak didapatkan korelasi antara ekspresi p53 dengan lokasi karsinoma kolorektal meskipun frekuensi ekspresi p53 lebih besar pada tumor yang lebih distal. Dari penelitian ini dapat diperkirakan bahwa mutasi pada protein p53 berperan dalam progresi dan metastase karsinoma kolorektal. Dengan adanya tambahan informasi mengenai ekspresi p53 pada tiap kasus karsinoma kolorektal dapat membantu kita untuk memberikan penjelasan mengenai prognosa penyakit yang lebih akurat kepada penderita.

7.2 SARAN

Perlunya penelitian yang mencakup sampel yang lebih besar lagi terutama untuk lokasi karsinoma kolorektal

Perlunya penelitian lebih lanjut dan berkesinambungan mengenai ekspresi p53 dengan *survival rate*. Begitu juga pengaruh ekspresi p53 terhadap kemoterapi baik mengenai neoadjuvant, kemosensitivitas dan jenis yang akan diberikan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Hawk ETm Limburg PJ, Viner JL. Epidemiology and prevention of colorectal cancer. *Surg Clin N Am* 2002; 8 : 905-941.
2. Wibowo S. Karsinoma Kolorektal. Simposium Bedah Digestif PIT XII IKABI Surabaya, 2000.
3. Colorectal Carcinoma : p53. Available at : <http://www.specialtylabs.com/books/display.asp?id-524>. Accessed February 1, 2004
4. Sun XF, Carstensen JM, Zhang H, Stal O, Wingren S, Hatschek T. Prognostic significance of cytoplasmic p53 oncoprotein in colorectal adenocarcinoma. *Lancet* 1992; 340: 1369-73
5. Rodrigues NR, Rowan A, Smith ME, Kerr IB, Bodmer WF, Gannon JV, Lane DP. p53 mutations in colorectal cancer. *Proc Natl Acad Sci*, 1990;87 : 7555-9
6. Iacopetta B. TP53 mutation in colorectal cancer. *Human Mutation* 2003; 21 : 271-6.
7. Navarro M, Dotor E, De Oca J, Guino E, Vilardell F, Gonzalez I, Lioberas B, Moreno V. Distinct prognostic value of p53 overexpression and gene alterations in colorectal cancer. *Ann of Oncol* 2000; 11 (Suppl) : 52
8. p53 in colon cancer. Available at : <http://p53.curie.fr>. Accessed Februari 1, 2004
9. Mehta KU, Goldfarb MA, Zinterhofer LJ. Absent p53 protein in colorectal tumor cells reflects poor survival. *The Journal of Applied Reserch in Clinical and Experimental Therapeutics*, 2(3), 2002. Available at :

<http://www.jrnlappliedresearch.com/articles/Vol2Iss3/Mehtafal02.htm>

Accessed Februari 1, 2004

10. Androver E, Maestro ML, Sanz Casta MT, Del Barco V, Cerdan J, Fernandez C, Balibrea JL. Expression of high p53 levels in colorectal cancer : a favourable prognostic factor. *Br J Canc* 1999; 81: 122-6
11. Ji C, Smith D, Goh H. The role and prognostic significance of p53 mutation in colorectal carcinomas. *World J Gastroenterol* 2000; 6(Suppl 3) : 78-80.
12. Diez M, Medrano M, Muguerza JM. Influence of tumor localization on the prognostic value of p53 protein in colorectal adenocarcinoma. *Anticancer Res.* 2000; 20 : 3907-12
13. Allegra CJ, Parr AL, Wold LE, Mahoney MR, Sargent DJ, Johnston P, Klein P, Behan K, Connel MJ, Levitt R, Kugler JW, Tirona MT, Goldberg RM. Investigation of prognostic and predictive value of thymidylate synthase, p53, and Ki-67 in Patients with locally advanced colon cancer. *J Clin Onc* 2002; 20 : 1735-43
14. Kressner U, Inganas M, Byding S, Blikstad I, Pahlman L, Glimelius B, Lindmark G. Prognostic value of p53 genetic changes in colorectal cancer. *J Clin Onc* 1999, 17 : 593-9
15. Iglesias D, Velasco JR R, Petrement JP, Ramallo T, Cervero D. Effect of overexpression of p53 protein in colorectal carcinoma on short-term prognosis. *Rev Esp Enferm Dig* 1994, 86 : 796-802
16. Erhan Y, Korkut MA, Kara E, Aydede H, Sakarya A, Ilkgul O. Value of p53 protein expression and its relationship with short-term prognosis in colorectal cancer. *Ann Saudi Med* 2002; 22 : 377-9

17. Allegra CJ, Paik S, Colangelo LH. Prognostic value of thymidylate synthase, Ki-67, and p53 in patients with Dukes' B and C Colon Cancer: A National Cancer Institute-National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Collaborative study. *J Clin Onc* 2003; 21 : 241-250
18. Bosari S, Viale G, Bossi P, Maggioni M, Coggi G, Murray JI, Lee AK. Cytoplasmic accumulation of p53 protein an independent prognostic indicator in colorectal adenocarcinomas. *J Natl Cancer Inst* 1994, 86 : 681-7
19. Nathanson SD, Linden MD, Tender P, Zarbo RJ, Jacobsen G, Nelson LT. Relationship among p53, stage, and prognosis of large bowel cancer. *Dis Colon Rectum* 1994; 37 : 527-34
20. Kodner IJ, Fry RD, Fleshman JW, Birnbaum EH, Read TE. Colon, Rectum and Anus. In : Schwartz SI, Shires GT, Spencer FC, Daly JM, Fischer JE, Galloway AC (eds.). *Principles Of Surgery*. 7th ed. New York : McGraw-Hill; 1999. p.1266-71, 1329-76.
21. Cotran RS, Kumar V, Collins T. Neoplasia and Small and Large Intestines. In : Cotran RS, Kumar V, Collins T (eds). *Robbins pathologic basis of disease*. 6th ed. Philadelphia : WB Saunders; 1999. p. 290-2, 827-37.
22. Leslie A, Carey FA, Pratt NR, Steele RJC. The colorectal adenoma-carcinoma sequence. *Br J Surg* 2002; 89: 845-60
23. Calvert PM, Frucht H. The genetic of colorectal cancer. *Ann Intern Med* 2002; 137 : 603-12
24. ARF-MDM2-P53 signaling pathway. Available at : <http://www.humphath.com>. Accessed June 1, 2005.

25. Stratton MR. The p53 gene in human cancer. In : Yamold JR, Stratton MR, McMillan TJ. *Molecular Biology for Oncologist*. 2nd ed. Great Britain : Chapman & Hall, 1996, p. 92-101
26. Pattiata R. The p53 Tumor Supressor Gene. *Indonesian Journal of Pathology* 1996; 6 : 7-12.
27. Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Neoplasia. In : Kumar V, Abbas AK, Fausto N (eds). *Robbins pathologic basis of disease*. 7th ed. Philadelphia : WB Saunders, 2005, p.288-339
28. Zhang H. Evaluation of four antibodies in detecting p53 protein for predicting clinicopathological and prognostic significance in colorectal carcinoma. *Clinical Cancer Research* 1999; 5 : 4126-32
29. Welton ML, Varma MG, Amerhauser A. Colon, Rectum and Anus. In : Norton JA, Bollinger R, Chang AE, Lowry SF, Mulvihill SJ, Pass HI, Thompson RW (eds.). *Surgery, Basic Science and Clinical Evidence*. New York : Springer; 2001. p. 667-71, 701-11.
30. Fenoglio-Preiser CM, Lantz PE, Davis M, Listrom MB, Rilke FO. *Gastrointestinal Pathology An Atlas and Text*. New York:Raven Press; 1989, p.745-786.
31. Sternberg SS, Antonioli DA, Carter D (eds). *Diagnostic Surgical Pathology* Vol.2. 3rd ed. Philadelphia : Lippincott Williams & Wilkins; 1999. p.1436-42
32. Rosai J. *Ackerman's Surgical Pathology*. 8th ed. St Louis : Mosby; 1996. p. 762-77
33. *Staging of Colo-rectal Cancers*. Department of Pathology, SGPGIMS, Lucknow, India. On-line Seminars and Tutorials. Available at :

<http://www.sgpgi.ac.in/path/seminars/ccastage.html>. Accessed February 1, 2004

34. Compton CC. Pathology and Staging. In : Willett CG (ed.). Atlas of Clinical Oncology, Cancer of the Lower Gastrointestinal Tract. London : BC Decker; 2001. p.53-77
35. Lee SA, Kwon HC, Park MA, Jung CK, Kim SH, Park KJ, Choi HJ, Lee HS, Roh MS, Kim JS, Kim HJ.. Impact of the New AJCC Staging System and Adjuvant Treatment in Rectal Cancer. Cancer Research and Treatment 2004; 36 : 121-7
36. Classification of Colon/Rectal Cancer. Available at :
<http://www.fha.state.md.us/cancer/pdf/stage.pdf>. Accessed February 1, 2004
37. ACS : Colorectal Cancer Facts and Figures – Special Edition 2005. Available at :
http://www.cancer.org/docroot/STT/content/STT_1x_Colorectal_Cancer_Facts_and_Figures_-_Special_Edition_2005.asp. Accessed June 22, 2005.
38. National Cancer Institute's Surveillance, Epidemiology and End Results. Available at : <http://www.seer.cancer.gov>. Accessed June 22, 2005.
39. Smyrk TC. Colorectal Cancer Pathology. In : Kelsen DP, Daly JM, Kern SE, Levin B, Tepper JE (eds). Gastrointestinal Oncology Principles and Practice. Philadelphia : Lippincott Williams & Wilkins; 2002. p. 723.

Lampiran 1

REKAPITULASI DATA PENDERITA KARSINOMA KOLOREKTAL

Nama	Sex	Umur	Tindakan	Diagnosa	Jenis PA	Diferensiasi	Stadium	Lokasi	Grading	Stadium	Ekspresi p53	p53
H	p	55	operasi	ca rectum	AdenoCa	well diff	III	kiri	rendah	std tinggi	ringan	lack
A	l	62	operasi	ca rectum	Adenoca	well diff	II	kiri	rendah	std rendah	sedang	over
L	l	49	biopsi	ca rectum	Adenoca	well diff	II	kiri	rendah	std rendah	sedang	over
AD	l	62	operasi	ca rectum	Adenoca	well diff	II	kiri	rendah	std rendah	berat	over
DD	p	50	biopsi	ca rectum	Signet ring cel Ca		II	kiri	tinggi	std rendah	Tidak representatif	
S	l	57	operasi	ca rectum	AdenoCa	poorly diff	IV	kiri	tinggi	std tinggi	sedang	over
R	l	49	operasi	ca colon ascenden	AdenoCa	well diff	III	kanan	rendah	std tinggi	berat	over
S	l	60	operasi	ca caecum	Mucinus Ca		III	kanan	tinggi	std rendah	berat	over
C	l	44	operasi	ca rectum	AdenoCa	well diff	III	kiri	rendah	std tinggi	ringan	lack
D	l	73	operasi	ca sigmoid	AdenoCa	well diff	II	kiri	rendah	std rendah	Tidak representatif	
E	p	28	operasi	ca sigmoid	AdenoCa	well diff	II	kiri	rendah	std rendah	ringan	lack
N	l	50	operasi	ca rectum	AdenoCa	poorly diff	III	kiri	tinggi	std tinggi	sedang	over
A	l	43	biopsi	ca rectum	AdenoCa	moderate diff	III	kiri	rendah	std tinggi	berat	over
J	p	55	biopsi	ca rectum	AdenoCa	moderate diff	III	kiri	rendah	std tinggi	berat	over
S	p	57	operasi	ca colon descenden	Mucinus Ca		III	kiri	tinggi	std tinggi	sedang	over
C	p	69	operasi	ca colon ascenden	AdenoCa	moderate diff	II	kiri	rendah	std rendah	ringan	lack
J	p	44	operasi	ca rectum	AdenoCa	moderate diff	II	kiri	rendah	std rendah	ringan	lack
U	l	64	operasi	ca rectum	AdenoCa	moderate diff	II	kiri	rendah	std rendah	ringan	lack
S	l	64	operasi	ca rectum	AdenoCa	moderate diff	II	kiri	rendah	std rendah	ringan	lack
K	p	57	operasi	ca colon descenden	AdenoCa	well diff	II	kiri	rendah	std rendah	ringan	lack
S	l	66	operasi	ca colon ascenden	Mucinus Ca		III	kanan	tinggi	std tinggi	sedang	over
S	l	46	operasi	ca rectum	AdenoCa	well diff	III	kiri	rendah	std tinggi	sedang	over
A	p	50	biopsi	ca rectum	AdenoCa	poorly diff	III	kiri	tinggi	std tinggi	berat	over
S	l	54	operasi	ca sigmoid	Mucinus Ca		II	kiri	tinggi	std rendah	ringan	lack
A	l	61	operasi	ca colon ascenden	AdenoCa	poorly diff	III	kanan	tinggi	std tinggi	berat	over
S	l	48	operasi	ca colon transversum	AdenoCa	well diff	II	kanan	rendah	std rendah	ringan	lack
M	l	60	operasi	ca colon transversum	AdenoCa	moderate diff	III	kanan	rendah	std tinggi	ringan	lack
N	p	62	operasi	ca rectum	AdenoCa	well diff	II	kiri	rendah	std rendah	ringan	lack
S	l	47	operasi	ca colon descenden	AdenoCa	poorly diff	III	kiri	tinggi	std tinggi	ringan	lack
M	p	39	operasi	ca sigmoid	Mucinus Ca		II	kiri	tinggi	std rendah	berat	over
S	p	41	operasi	ca colon transversum	AdenoCa	well diff	II	kanan	rendah	std rendah	ringan	lack
N	l	57	operasi	ca sigmoid	AdenoCa	poorly diff	III	kiri	tinggi	std tinggi	ringan	lack
A	p	62	operasi	ca recto-sigmoid	AdenoCa	moderate diff	III	kiri	rendah	std tinggi	berat	over
S	l	66	operasi	ca sigmoid	AdenoCa	poorly diff	IV	kiri	tinggi	std tinggi	berat	over

Korelasi Ekspresi Protein p53 dengan

Resep Traser

Lampiran 1

REKAPITULASI DATA PENDERITA KARSINOMA KOLOREKTAL

S	I	78	operasi	ca colon ascenden	AdenoCa	well diff	II	kanan	rendah	std rendah	ringan	lack
K	I	40	operasi	ca rectum	Mucinus Ca		III	kiri	tinggi	std tinggi	berat	over
M	I	62	biopsi	ca rectum	AdenoCa	poorly diff	III	kiri	tinggi	std tinggi	sedang	over
S	P	36	operasi	ca colon descenden	AdenoCa	moderate diff	II	kiri	rendah	std rendah	ringan	lack
S	I	65	operasi	ca colon ascenden	Mucinus Ca		II	kanan	tinggi	std rendah	berat	over
F	P	80	operasi	ca caecum	AdenoCa	moderate diff	III	kanan	rendah	std tinggi	negatif	lack
R	P	77	operasi	ca rectum	AdenoCa	well diff	II	kiri	rendah	std rendah	negatif	lack
D	P	47	operasi	ca rectosigmoid	AdenoCa	moderate diff	II	kiri	rendah	std rendah	ringan	lack
E	P	91	operasi	ca colon flex lienalis	AdenoCa	moderate diff	II	kiri	rendah	std rendah	ringan	lack
L	P	53	operasi	ca sigmoid	AdenoCa	well diff	III	kiri	rendah	std rendah	ringan	lack
N	I	50	operasi	ca colon ascenden	AdenoCa	moderate diff	III	kanan	rendah	std tinggi	sedang	over
M	I	48	operasi	ca rectum	AdenoCa	well diff	III	kiri	rendah	std tinggi	berat	over
T	I	49	operasi	ca rectum	AdenoCa	well diff	I	kiri	rendah	std tinggi	Tidak representatif	
L	P	53	operasi	ca sigmoid	AdenoCa	well diff	III	kiri	rendah	std rendah	ringan	lack
L	I	40	biopsi	ca rectum	AdenoCa	well diff	IV	kiri	rendah	std tinggi	sedang	over
I	I	46	operasi	ca rectum	AdenoCa	moderate diff	II	kiri	rendah	std tinggi	berat	over
M	I	48	operasi	ca rectum	AdenoCa	well diff	II	kiri	rendah	std rendah	berat	over
S	I	61	biopsi	ca rectum	AdenoCa	well diff	III	kiri	rendah	std rendah	negatif	lack
K	P	76	operasi	ca colon ascenden	AdenoCa	moderate diff	III	kanan	rendah	std tinggi	Tidak representatif	
S	P	28	operasi	Ca colon descenden	Mucinus Ca		II	kiri	tinggi	std rendah	berat	over
P	I	45	operasi	ca sigmoid	AdenoCa	moderate diff	II	kiri	rendah	std rendah	berat	over
S	I	42	operasi	Ca colon descenden	Mucinus Ca		III	kiri	rendah	std rendah	sedang	over
S	P	75	operasi	ca rectum	AdenoCa	moderate diff	II	kiri	tinggi	std tinggi	sedang	over
W	I	68	operasi	ca rectum	AdenoCa	well diff	III	kiri	rendah	std rendah	sedang	over
D	P	69	biopsi	ca rectum	AdenoCa	poorly diff	III	kiri	rendah	std tinggi	Tidak representatif	
D	I	60	operasi	ca rectum	AdenoCa	well diff	III	kiri	tinggi	std tinggi	berat	over
								kiri	rendah	std tinggi	berat	over

Lampiran 2

UJI DATA STATISTIKA

Jenis Kelamin

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	Laki-laki	36	61.0	61.0	61.0
	Perempuan	23	39.0	39.0	100.0
	Total	59	100.0	100.0	

Descriptive Statistics

	N	Range	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
Umur (th)	59	63	28	91	55.49	12.803
Valid N (listwise)	59					

Diagnosa

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	Ca Rectum	28	47.5	47.5	47.5
	Ca Sigmoid	9	15.3	15.3	62.7
	Ca Rectosigmoid	2	3.4	3.4	66.1
	Ca Colon Ascenden	8	13.6	13.6	79.7
	Ca Colon Descenden	6	10.2	10.2	89.8
	Ca Colon Transversum	3	5.1	5.1	94.9
	Ca Colon Flex Lienalis	1	1.7	1.7	96.6
	Ca Caecum	2	3.4	3.4	100.0
	Total	59	100.0	100.0	

Tindakan

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	Operasi	50	84.7	84.7	84.7
	Biopsi	9	15.3	15.3	100.0
	Total	59	100.0	100.0	

HistoPA

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	Well differentiated Adeno Carcinoma	24	40.7	40.7	40.7
	Moderate differentiated Adeno Carcinoma	16	27.1	27.1	67.8
	Poorly differentiated Adeno Carcinoma	9	15.3	15.3	83.1
	Mucinus Carcinoma	9	15.3	15.3	98.3
	Signet ring cell Carcinoma	1	1.7	1.7	100.0
	Total	59	100.0	100.0	

Stadium

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	I	1	1.7	1.7	1.7
	II	26	44.1	44.1	45.8
	III	29	49.2	49.2	94.9
	IV	3	5.1	5.1	100.0
	Total	59	100.0	100.0	

Umur (th)

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	28	2	3.4	3.4	3.4
	36	1	1.7	1.7	5.1
	39	1	1.7	1.7	6.8
	40	2	3.4	3.4	10.2
	41	1	1.7	1.7	11.9
	42	1	1.7	1.7	13.6
	43	1	1.7	1.7	15.3
	44	2	3.4	3.4	18.6
	45	1	1.7	1.7	20.3
	46	2	3.4	3.4	23.7
	47	2	3.4	3.4	27.1
	48	3	5.1	5.1	32.2
	49	3	5.1	5.1	37.3
	50	4	6.8	6.8	44.1
	53	2	3.4	3.4	47.5
	54	1	1.7	1.7	49.2
	55	2	3.4	3.4	52.5
	57	4	6.8	6.8	59.3

60	3	5.1	5.1	64.4
61	2	3.4	3.4	67.8
62	5	8.5	8.5	76.3
64	1	1.7	1.7	78.0
65	1	1.7	1.7	79.7
66	2	3.4	3.4	83.1
68	1	1.7	1.7	84.7
69	2	3.4	3.4	88.1
73	1	1.7	1.7	89.8
75	1	1.7	1.7	91.5
76	1	1.7	1.7	93.2
77	1	1.7	1.7	94.9
78	1	1.7	1.7	96.6
80	1	1.7	1.7	98.3
91	1	1.7	1.7	100.0
Total	59	100.0	100.0	

Ekspresi p53

	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid Negatif	3	5.6	5.6	5.6
Ringan	19	35.2	35.2	40.7
Sedang	13	24.1	24.1	64.8
Berat	19	35.2	35.2	100.0
Total	54	100.0	100.0	

Ekspresi p53

	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid Lack of expression	22	40.7	40.7	40.7
Over expression	32	59.3	59.3	100.0
Total	54	100.0	100.0	

Ekspresi p53 * Differensiasi Crosstabulation

		Differensiasi			Total	
		Well Differentiated	Moderately Differentiated	Poorly Differentiated		
Ekspresi p53	Negatif	Count	2	1	0	3
		% of Total	3.7%	1.9%	0.0%	5.6%
	Ringan	Count	9	7	3	19
		% of Total	16.7%	13.0%	5.6%	35.2%
	Sedang	Count	5	2	6	13
		% of Total	9.3%	3.7%	11.1%	24.1%
	Berat	Count	4	6	9	19
		% of Total	7.4%	11.1%	16.7%	35.2%
Total		Count	20	16	18	54
		% of Total	37.0%	29.6%	33.3%	100.0%

Ekspresi p53 * Differensiasi Crosstabulation

		Differensiasi			Total	
		Well Differentiated	Moderately Differentiated	Poorly Differentiated		
Ekspresi p53	Lack of expression	Count	11	8	3	22
		% of Total	20.4%	14.8%	5.6%	40.7%
	Over expression	Count	9	8	15	32
		% of Total	16.7%	14.8%	27.8%	59.3%
Total		Count	20	16	18	54
		% of Total	37.0%	29.6%	33.3%	100.0%

Ekspresi p53 * Stadium Crosstabulation

		Stadium				Total	
		I	II	III	IV		
Ekspresi p53	Negatif	Count	0	2	1	0	3
		% of Total	.0%	3.7%	1.9%	.0%	5.6%
	Ringan	Count	1	13	5	0	19
		% of Total	1.9%	24.1%	9.3%	.0%	35.2%
	Sedang	Count	0	4	8	1	13
		% of Total	.0%	7.4%	14.8%	1.9%	24.1%
	Berat	Count	0	5	12	2	19
		% of Total	.0%	9.3%	22.2%	3.7%	35.2%
Total		Count	1	24	26	3	54
		% of Total	1.9%	44.4%	48.1%	5.6%	100.0%

Ekspresi p53 * Stadium Crosstabulation

		Stadium				Total	
		I	II	III	IV		
Ekspresi p53	Lack of expression	Count	1	15	6	0	22
		% of Total	1.9%	27.8%	11.1%	.0%	40.7%
	Over expression	Count	0	9	20	3	32
		% of Total	.0%	16.7%	37.0%	5.6%	59.3%
Total		Count	1	24	26	3	54
		% of Total	1.9%	44.4%	48.1%	5.6%	100.0%

Ekspresi p53 * Lokasi Crosstabulation

		Lokasi			Total	
		Kanan	Kiri	Rectum		
Ekspresi p53	Negatif	Count	1	0	2	3
		% of Total	1.9%	.0%	3.7%	5.6%
	Ringan	Count	4	8	7	19
		% of Total	7.4%	14.8%	13.0%	35.2%
	Sedang	Count	1	5	7	13
		% of Total	1.9%	9.3%	13.0%	24.1%
	Berat	Count	6	3	10	19
		% of Total	11.1%	5.6%	18.5%	35.2%
Total	Count	12	16	26	54	
	% of Total	22.2%	29.6%	48.1%	100.0%	

Ekspresi p53 * Lokasi Crosstabulation

		Lokasi			Total	
		Kanan	Kiri	Rectum		
Ekspresi p53	Lack of expression	Count	5	8	9	22
		% of Total	9.3%	14.8%	16.7%	40.7%
	Over expression	Count	7	8	17	32
		% of Total	13.0%	14.8%	31.5%	59.3%
Total	Count	12	16	26	54	
	% of Total	22.2%	29.6%	48.1%	100.0%	

Nonparametric Correlations

Correlations

			Differensiasi	Ekspresi p53
Spearman's rho	Differensiasi	Correlation Coefficient	1.000	.338*
		Sig. (2-tailed)	.	.012
		N	54	54
	Ekspresi p53	Correlation Coefficient	.338*	1.000
		Sig. (2-tailed)	.012	.
		N	54	54

*. Correlation is significant at the .05 level (2-tailed).

Nonparametric Correlations

Correlations

			Stadium	Ekspresi p53
Spearman's rho	Stadium	Correlation Coefficient	1.000	.424**
		Sig. (2-tailed)	.	.001
		N	54	54
	Ekspresi p53	Correlation Coefficient	.424**	1.000
		Sig. (2-tailed)	.001	.
		N	54	54

** . Correlation is significant at the .01 level (2-tailed).

Symmetric Measures

		Value	Asymp. Std. Error(a)	Approx. T(b)	Approx. Sig.
Nominal by Nominal	Contingency Coefficient	.133			.614
Interval by Interval	Pearson's R	.080	.135	.582	.563(c)
Ordinal by Ordinal	Spearman Correlation	.092	.135	.664	.510(c)
N of Valid Cases		54			

a Not assuming the null hypothesis.

b Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

c Based on normal approximation.

Lampiran 3

TEKNIK PULASAN IMUNOHISTOKIMIA
DARI SEDIAAN BLOK PARAFIN

1. Slide ditempatkan dalam rak pengecatan dan dilakukan dewax (deparafinikasi) dengan xylol, sebanyak 3 kali masing-masing selama 5 menit
2. Hidrasi dengan :
 - a. Alkohol absolut 100% selama 5 menit
 - b. Alkohol 95% selama 5 menit
 - c. Alkohol 80% selama 5 menit
3. Cuci dengan aquadest selama 10 menit
4. Masukkan sediaan ke dalam cairan retrieval (DAKO) 1 : 10, kemudian masukkan ke dalam microwave :
 - a. Dengan temperatur tinggi (high) sampai mendidih (3-4 menit)
 - b. Dengan temperatur rendah (low) selama 27 menit
5. Keluarkan sediaan dari microwave, biarkan sampai larutan retrieval jernih dan dingin (antara 45-60 menit)
6. Cuci dengan aquadest selama 10 menit
7. Cuci dengan Tris HCl buffer pH 7,6 sebanyak 3 kali, masing-masing selama 5 menit
8. Inkubasi dengan antibodi primer (*Monoclonal Mouse, Anti Human p53 protein*) yang telah diencerkan 1 : 20 dengan NSS (*Normal Sine Serume*) 3% selama 1 malam, pada temperatur kamar
9. Cuci dengan Tris HCl buffer pH 7,6 sebanyak 3 kali, masing-masing selama 5 menit

10. Inkubasi dengan *enzyme conjugated biotinylated secondary antibody (Rabbit Anti Mouse Immunoglobulin, E 0354)* yang telah diencerkan 1 : 400 dengan NSS 3% selama 1 jam pada temperatur kamar
11. Cuci dengan Tris HCl buffer pH 7,6 sebanyak 3 kali, masing-masing selama 5 menit
12. Inkubasi dengan Streptavidin (DAKO) yang telah diencerkan 1 : 1000 dengan NSS 3% selama 1 jam pada temperatur kamar
13. Cuci dengan Tris HCl buffer pH 7,6 sebanyak 3 kali, masing-masing selama 5 menit
14. Tetesi dengan larutan substrat peroksidase yaitu : DAB (*Diamino Benzidine Tetrahydrochloride*) 10 mg (1 tablet) dalam 10 ml Tris HCl buffer pH 7,6 dan 10 ml H₂O₂ (*Hydrogen Peroxyde*) 30% selama 10 menit
15. Cuci dengan aquadest selama 10 menit
16. *Counter stain* dengan *Meyer's Hematoxylin* selama 2 menit
17. Cuci dengan air mengalir selama 10 menit
18. Cuci dengan aquadest selama 5 menit
19. Dehidrasi dengan :
 - a. Alkohol 80% selama 5 menit
 - b. Alkohol 95% selama 5 menit
 - c. Alkohol absolut 100% selama 5 menit
20. *Clearing* 3 kali dengan xylol masing-masing selama 5 menit .
21. *Mounting* dengan entelan