



Putih Telur Sebagai *Protein Blocking* pada Pengecatan *Estrogen Receptor* Metode Imunohistokimia

Albumen as Protein Blocking on the Estrogen Receptor Staining Using Immunohistochemical Method

Aenun Izah, Sri Sinto Dewi, Arya Iswara
Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang
ainunizzah89@gmail.com

Abstrak

Putih telur merupakan sumber protein hewani dengan kandungan protein yang tinggi, sehingga putih telur dapat dijadikan *blocking agent* yang berfungsi mengikat protein non spesifik yang terdapat dalam jaringan. Penegakan diagnosis kanker payudara salah satunya dengan pengecatan IHC ER (*Estrogen Receptor*). ER merupakan protein yang dihasilkan oleh jaringan yang mengalami mutasi gen pada DNA yang mengakibatkan terjadinya proliferasi sel. Tujuan penelitian untuk mengetahui gambaran hasil pengecatan IHC ER menggunakan putih telur ayam kampung dan bebek konsentrasi 1%; 1,5%; 2% dan 2,5% sebagai blocking agent dengan normal serum sebagai kontrol. Sampel penelitian adalah 1 blok parafin jaringan kanker payudara IHC ER +3. Pengecatan IHC secara indirec dengan metode *Strep (Avidin) Biotin Complex*. Pengecatan IHC ER dengan normal serum sebagai kontrol didapatkan hasil +3. Konsentrasi paling baik pada pengecatan IHC menggunakan putih telur ayam kampung adalah pada konsentrasi 2,5%, putih telur bebek konsentrasi 2% dan 2,5% dengan hasil +3. Tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara normal serum dengan putih telur ayam kampung konsentrasi 2,5% dan putih telur bebek konsentrasi 2% dan konsentrasi 2,5%. Simpulan adalah normal serum dapat diganti dengan putih telur ayam kampung konsentrasi 2,5% dan putih telur bebek konsentrasi 2% dan konsentrasi 2,5%.

Kata kunci: IHC, ER, putih telur, protein blocking

Abstract

albumen is an animal protein with a high protein content, so it might can be used as a blocking agent that can inhibit non-specific protein found in tissues. One of breast cancer diagnostic method is by IHC ER (Estrogen Receptor) staining. ER is a protein produced by tissue that produce gene mutations in DNA that induring cells proliferation. The objective of the research was to find out the results of IHC ER staining using albumen from organic chicken egg and albumen from duck egg with concentration of 1%; 1,5%; 2% and 2,5% and normal serum as control. The sample was 1 block of IHC ER +3 breast cancer paraffin. Indirect IHC staining using Strep (Avidin) Biotin Complex method. IHC ER staining using normal serum as control resulted +3. The best concentration on IHC staining using albumen from organic chicken egg is at concentration 2,5%, albumen from duck egg concentration 2% and 2,5% with the result of +3. There was no significant difference between normal serum and albumen from organic chicken egg with concentration of 2,5%, albumen from duck egg with concentration of 2% and 2,5%. The conclusion is a normal serum can be replaced with 2,5% albumen from organic chicken egg , 2% and 2,5% concentration of albumen from duck egg.

Keywords: IHC, ER, Albumen, Protein blocking

PENDAHULUAN

Kanker merupakan salah satu penyakit yang menyebabkan kematian terbesar pada abad ini. Pada tahun-tahun terakhir ini tampak adanya peningkatan kasus kanker yang disebabkan oleh pola hidup yang salah seperti kebiasaan merokok dan minuman beralkohol. Kanker merupakan satu jenis penyakit yang ditandai dengan pertumbuhan sel yang abnormal dan tidak terkendali dari sel-sel tubuh (Yuniar & Rohyani, 2009). Salah satu kanker yang paling sering dijumpai adalah kanker payudara, yakni kanker yang sering dijumpai pada wanita

setelah kanker rahim. Prognosis kanker payudara dipengaruhi oleh ukuran tumor, metastasis, derajat diferensiasi, dan jenis histopatologi (Firasi & Yudhanto, 2016).

Diagnosis kanker dapat dilakukan dengan pengecatan Imunohistokimia. imunohistokimia merupakan teknik pemeriksaan menggunakan antibodi untuk mendeteksi secara spesifik keberadaan protein tertentu yang berperan sebagai antigen di dalam sel (Sandhika & Novarina, 2016). Prinsip dari imunohistokimia ini adalah perpaduan antara reaksi imunologi dan kimiawi, dimana reaksi imunologi ditandai dengan adanya reaksi antara antigen dengan antibodi sedangkan reaksi kimiawi ditandai dengan adanya reaksi antara enzim dengan substratnya. Reaksi ini bersifat spesifik, karena bahan yang dideteksi akan direaksikan dengan antibodi spesifik yang dilabel dengan satu enzim, enzim tersebut adalah peroksidase. Jika antibodi dilabel dengan enzim peroksidase maka substrat yang digunakan adalah peroksida (Widiarti *et al*, 2009). Peran imunohistokimia dalam patologi diagnostik telah berkembang sedemikian rupa, sehingga metode imunohistokimia menjadi bersifat rutin dalam patologi anatomi terutama sehubungan dengan diagnosis dan klasifikasi tumor (Dabbs, 2014).

Salah satu pengecatan imunohistokimia secara indirec adalah *Receptor estrogen (ER)*. ER merupakan salah satu standar dalam penatalaksanaan karsinoma payudara pada saat ini (Widiarti *et al*, 2009). ER sebagai prognostik dan faktor prediktif karsinoma kanker payudara (Parise & Caggiano, 2014). Kesalahan-kesalahan yang terjadi selama proses pengecatan imunohistokimia dapat menimbulkan *trouble shooting* yang dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan, salah satunya adalah buruknya intensitas *background staining*. Hal ini dapat disebabkan oleh tidak cukupnya *blocking agent* yang digunakan. *Blocking agent* yang dapat digunakan untuk *protein blocking* pada pengecatan imunohistokimia diantaranya adalah normal serum, *protein Solution & Commercial mixes* (Masruro, 2016). Dari ketiga *blocking agent* tersebut belum ada yang dipatenkan. Hingga saat ini *protein blocking* yang masih digunakan adalah normal serum, karena normal serum tidak terlibat dalam reaksi imunologi (Dabbs, 2014). Akan tetapi normal serum memiliki kekurangan, yaitu harganya relatif lebih mahal dan sulit didapatkan sehingga diperlukan *blocking agent* yang relatif lebih murah dan mudah didapatkan yaitu *protein Solution*, yang salah satunya adalah putih telur.

Telur merupakan salah satu sumber protein hewani, mengandung asam amino yang lengkap dan protein yang baik. Protein telur merupakan salah satu dari protein yang berkualitas baik, dan dianggap mempunyai nilai biologi yang tinggi dan dapat dipilah menjadi protein putih telur dan protein kuning telur (Muharlieni, 2016). Kandungan protein dalam putih telur ayam kampung per 100g adalah sebanyak 10,2g (Muharlieni, 2016), sedangkan kandungan protein dalam putih telur bebek per 100g adalah sebanyak 11,0 g (Azwar, 2004). Sehingga hal ini mendorong penulis untuk melakukan penelitian modifikasi pada proses *protein blocking* menggunakan putih telur. Pada penelitian ini akan menggunakan putih telur ayam kampung dan putih telur bebek sebagai perbandingan. Berdasarkan uraian diatas, penulis bermaksud mengangkat judul “Pengecatan imunohistokimia ER Menggunakan Putih Telur dan Normal Serum” sebagai bahan penelitian.

METODE

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen dengan pendekatan *Cross sectional* (potong lintang). Sampel yang digunakan adalah jaringan yang sudah diketahui positif kanker payudara +3 dan dilakukan pengecatan imunohistokimia dengan objek *protein blocking* menggunakan protein putih telur ayam kampung dan putih telur bebek konsentrasi 1%, 1,5%, 2% dan 2,5% dengan 4 kali pengulangan. Data yang diperoleh dalam penelitian dianalisis dengan menggunakan uji statistik *Kruskal Wallis* dan dilanjutkan dengan uji *Posthoc-Tuckey*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kriteria penilaian hasil pengecatan IHC ER dapat dilihat pada tabel 3.

Table 1:
Interpretasi Hasil Pengecatan IHC ER (East *et al.*, 2015)

Skor	Penilaian
0	Intensitas, tidak terlihat
1+	Intensitas, inti terwarnai terlihat samar atau lemah
2+	Intensitas, inti terwarnai tidak menyeluruh atau sedang
3+	Intensitas, inti terwarnai secara menyeluruh atau bersifat kuat

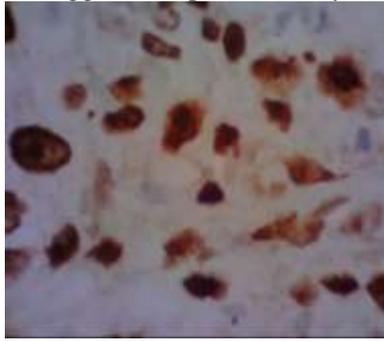
Berdasarkan intensitasnya hasil pengecatan IHC ER menggunakan putih telur ayam kampung dan bebek dengan konsentrasi 1%; 1,5%; 2% dan 2,5% dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2:
Hasil pengecatan IHC ER berdasarkan intensitas

Blocking Agent		Penilaian ekspresi ER				
		1	2	3	4	
Perlakuan	1%	- Putih telur ayam kampung	+1	+1	+1	+1
		- Putih telur bebek	+1	+1	+1	+1
	1,5%	- Putih telur ayam kampung	+1	+1	+1	+1
		- Putih telur bebek	+2	+2	+2	+2
	2%	- Putih telur ayam kampung	+2	+2	+2	+2
		- Putih telur bebek	+3	+3	+3	+3
	2,5%	- Putih telur ayam kampung	+3	+3	+3	+3
		- Putih telur bebek	+3	+3	+3	+3
Kontrol	Normal serum	+3	+3	+3		

Perbedaan hasil intensitas warna pada pengecatan IHC ER dengan variasi konsentrasi dapat dilihat pada gambar berikut:

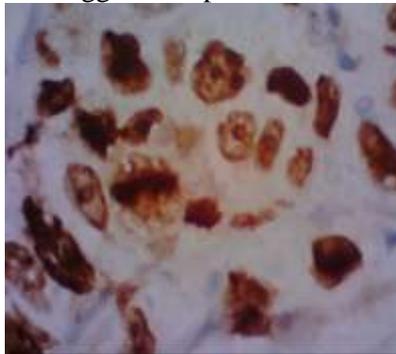
Gambar 1:
Pengecatan IHC ER menggunakan putih telur ayam kampung konsentrasi 2,5%



Gambar 2:
Pengecatan IHC ER menggunakan putih telur bebek konsentrasi 2%



Gambar 3:
Pengecatan IHC ER menggunakan putih telur bebek konsentrasi 2,5%



Sebelum menggunakan antibodi spesifik untuk mendeteksi antigen yang terdapat pada jaringan maka protein non spesifik harus dihilangkan atau ditutup untuk mencegah pengikatan antibodi non spesifik, sehingga pada pengecatan IHC ER, proses *protein blocking* diterapkan sebelum menggunakan antibodi untuk mendeteksi antigen spesifik dalam jaringan. Prinsip dari protein blocking ini adalah larutan protein (*blocking agent*) yang ditambahkan akan mengikat protein non spesifik yang terdapat dalam jaringan sehingga membatasinya untuk berikatan dengan antibodi primer. *Protein blocking* berperan dalam meminimalisir protein non spesifik yang berkompetisi dalam mengikat antibodi yang terdapat dalam jaringan (Bancroft & Gamble, 2008).

Penyebab *non-specific background staining* pada pengecatan IHC adalah adanya ikatan hidrofobik dan ionik. Ikatan hidrofobik merupakan ikatan yang dihasilkan dari *Cross-linking* asam amino antar molekul protein yang saling berdekatan. *Cross-linking* ini dihasilkan dari fiksasi jaringan menggunakan aldehid (Bancroft & Gamble, 2008).

Pengecatan IHC ER menggunakan putih telur ayam kampung dan putih telur bebek

dengan variasi konsentrasi 1%; 1,5%; 2% dan 2,5% menunjukkan hasil dengan intensitas warna yang berbeda, pada perlakuan putih telur ayam kampung 2,5%, putih telur bebek 2% dan 2,5% diperoleh hasil pengecatan dengan intensitas warna yang kuat atau dapat dinyatakan +3, sehingga tidak terdapat perbedaan dengan kontrol.

KESIMPULAN

Setelah dilakukan penelitian, dapat disimpulkan bahwa gambaran pengecatan IHC ER menggunakan putih telur ayam kampung dan putih telur bebek 1%; 1,5%; 2% dan 2,5% didapatkan hasil sebagai berikut :

- a. Hasil pengecatan IHC ER pada *protein blocking* menggunakan putih telur ayam kampung konsentrasi 1% dan 1,5% didapatkan hasil +1, konsentrasi 2% +2, konsentrasi 2,5% +3
- b. Hasil pengecatan menggunakan putih telur bebek konsentrasi 1% didapatkan hasil +1, konsentrasi 1,5% +2, konsentrasi 2% dan 2,5% +3.
- c. Tidak menunjukkan adanya perbedaan pada hasil pengecatan IHC ER putih telur ayam kampung konsentrasi 2,5%.
- d. Tidak menunjukkan adanya perbedaan pada hasil pengecatan IHC ER putih telur bebek konsentrasi 2% dan konsentrasi 2,5%.
- e. Konsentrasi *protein blocking* yang paling baik pada putih telur ayam kampung adalah konsentrasi 2,5%.
- f. Konsentrasi *protein blocking* yang paling baik pada putih telur bebek adalah konsentrasi 2% dan 2,5%.

DAFTAR PUSTAKA

- Azwar, A. (2004). Kecenderungan masalah gizi dan tantangan di masa datang. *Disampaikan Pada Pertemuan Advokasi Program Perbaikan Gizi Menuju Keluarga Sadar Gizi. Jakarta: Hotel Sahid Jaya.*
- Bancroft, J. D., & Gamble, M. (Eds.). (2008). *Theory and practice of histological techniques.* Elsevier Health Sciences.
- Dabbs DJ (2014) 'Diagnostic immunohistochemistry: Theranostic and Genomic Applications', in. elsevier.
- Firasi, A. A. and Yudhanto, E. (2016) 'Hubungan usia terhadap derajat diferensiasi kanker payudara pada wanita' 5(4), pp. 327–336.
- Masruro, Y. A. (2016). Pengecatan Imunohistokimia Her2 Menggunakan Susu Skim Dan Normal Serum.
- Muharlieni (2010) 'Jurusan Produksi Ternak. Fakultas Peternakan, Universitas Brawijaya', *Jurnal Ilmu dan Teknologi Hasil Ternak*, 5(1), pp. 32–37.
- Sandhika W., & Novarina R. M., S. T. (2016) 'Pemeriksaan Imunositokimia untuk Mengungkapkan Patogenesis Vitiligo', *Cdk*, 43(10), pp. 742–746.
- Widiarti, W., Boewono, D. T., & Widyastuti, U. (2009). Deteksi Antigen Virus Dengue pada Progeni Vektor Demam Berdarah dengan Metode Imunohistokimia. *Buletin Penelitian Kesehatan*, 37(3 Sep).
- Yuniar, I. and Rohyani, F. (2009) 'Faktor–Faktor Yang Mempengaruhi Kejadian Kanker Serviks Di Puskesmas Karanganyar', *Jurnal Ilmiah Kesehatan Keperawatan*, 5(2), pp. 109–118.