

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Anatomi *Mammae*

Mammae mempunyai 20 kelenjar individual (lobi), tiap-tiap kelenjar mempunyai *ductus lactiferi* eferen terpisah yang bermuara ke puting payudara (*papila mammaria*). Kelompok-kelompok *alveolus (lobuli)* adalah akhir dari percabangan *ductus lactiferi*. Mammae terdiri dari glandula mammaria dan stroma fibrosa yang terisi oleh jaringan lemak. Pembentukan glandula mammaria dimulai di garis susu (*milk line mammary ridge*) yang terbentang dari aksila hingga ke regio inguinalis, dan merupakan suatu berkas ektoderm permukaan yang menebal dan terbentuk pada minggu ke-6 mudigah. Selain itu, *M.pectoralis major* juga merupakan lokasi terbentuknya payudara (mamma), bagian lain dari garis susu ini normalnya mengalami regresi (Paulsen dan Waschke, 2010). Untuk membentuk *ampulae* (rongga yang menyimpan air susu sebelum mencapai permukaan puting), ada 15 sampai 20 duktus yang bersatu di dekat *areola* (daerah gelap yang melingkar di sekitar puting). Kelenjar *Montgomery* adalah kelenjar minyak kecil yang terletak di sekitar setiap areola yang memiliki fungsi dalam pengeluaran pelumas untuk melindungi puting saat menyusui (Slowik, 2011).

2.2 Histologi *Mammae*

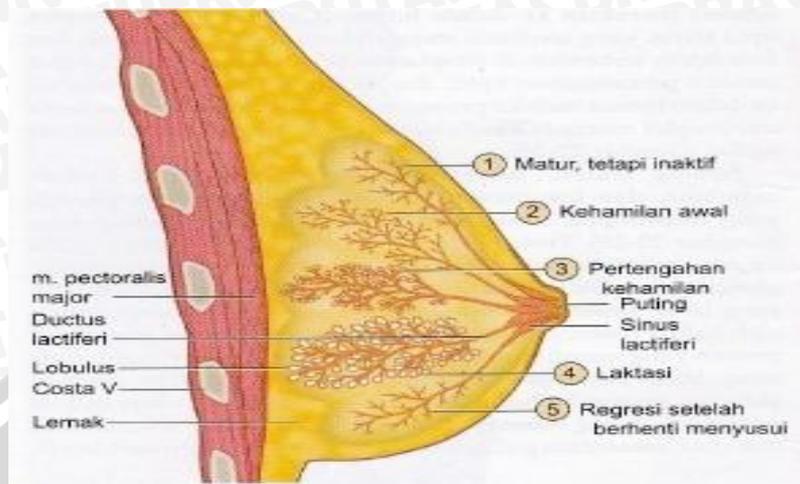
Kelenjar mammae dewasa merupakan suatu kelenjar *tubuloalveolar* campuran yang terdiri dari 20 lobus. Lobus-lobus dipisahkan oleh sekat jaringan

ikat dan jaringan adiposa, serta semua lobus dihubungkan ke *ductus laktiferus* yang bermuara di *papilla mammae*. Kelenjar mammae yang tidak aktif memperlihatkan sedikit perubahan siklik saat berlangsungnya daur haid. Tampak kelenjar mammae yang tidak aktif terutama terdiri dari duktus, dan tidak menunjukkan *alveoli sekretorik* (Eroschenko, 2010).

Lobulus kelenjar terdiri dari *duktus intralobularis* atau tubulus kecil yang dilapisi oleh epitel kuboid atau kolumnar rendah. Duktus interlobularis yang lebih besar menyebar disekitar lobulus dan duktus intralobularis. Di dasar epitel terdapat sel mioepitel kontraktile. Jaringan ikat longgar intralobularis mengandung fibroblas, limfosit, sel plasma, dan eosinofil yang mengelilingi duktus intralobularis. Jaringan ikat padat interlobularis mengandung pembuluh darah, arteriol, dan venula yang mengelilingi lobulus (Eroschenko, 2010).

2.3 Suplai Darah dan Aliran Limfatik Kelenjar *Mammae*

Sekitar 40 limfonodi axilla menerima dua pertiga aliran limfe dari mammae dan sebagian besar cairan limfe yang berasal dari abdomen atas dan dinding thorax, serta menyaring cairan limfe dari hampir seluruh ekstremitas atas. Cairan limfe dari axilla disalurkan oleh truncus subclavius dan dialirkan ke ductus lymphaticus dexter dan ductus thoracicus masing-masing disisi kanan dan kiri (Paulsen and Waschke, 2010).



Gambar 2.1 Kelenjar Payudara (Mescher, 2012)

Menurut sudut pandang bedah onkologik dan topografik klinis, kelenjar limfe pada mammae digolongkan ke dalam tiga tingkatan. M.pectoralis minor berfungsi sebagai batas:

- Tingkat I terletak lateral dari M. Pectoralis Minor
- Tingkat II terletak kaudal dari M. Pectoralis Minor
- Tingkat III terletak medial dari M. Pectoralis Minor

Limfonodi parasternales saling berhubungan di kedua sisi. Limfe dari tingkat I dialirkan ke Tingkat II dan melalui limfonodi axilla apicales ke Tingkat III, dan dari sini ke Truncus subclavius (Paulsen and Waschke, 2010).

Arteri mammae interna merupakan cabang dari arteri subklavia mensuplai darah arteri ke mammae. Kontribusi yang lain berasal dari cabang arteri aksilari toraks. Darah dialirkan dari payudara melalui vena profunda dan vena supervisial menuju vena kava superior. Aliran limfatik dari bagian sentral kelenjar mammae, kulit, puting, dan areola mengalir melalui sisi lateral menuju aksila sehingga, cairan limfe dari mammae melewati nodus limfe aksilar. Secara klinis, hal ini memiliki hubungan yang signifikan dengan metastasis *carcinoma mammae* (Sloane, 2004).

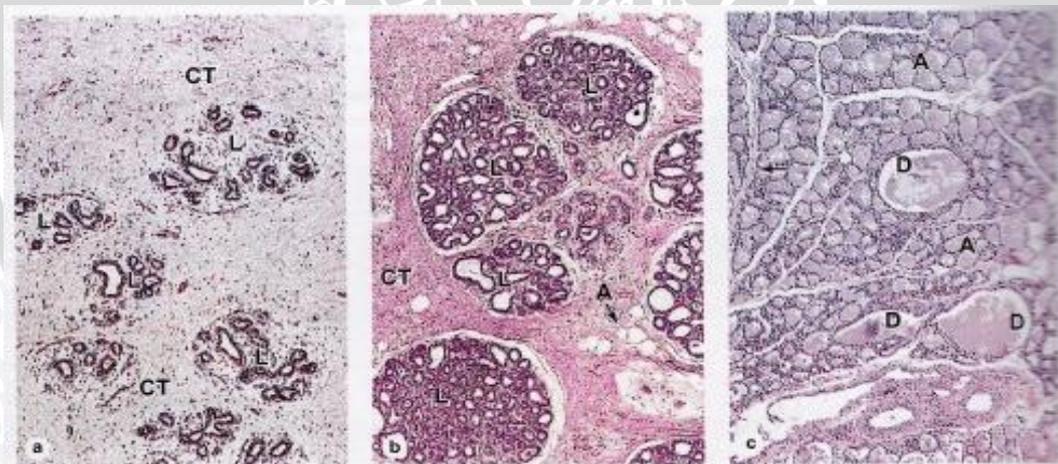
2.4 Perkembangan *Mammae*

Kelenjar mammae wanita maupun pria terdiri atas sinus lactiferi di dekat puting dengan cabang duktus kecil dari sinus ini, yang terjadi sebelum masa pubertas. Pada wanita pubertas, kadar estrogen sirkulasi lebih besar. Payudara membesar akibat terjadi akumulasi adiposit di jaringan ikat dan meningkatnya pertumbuhan dan percabangan sistem duktus. Seiring dengan pertumbuhan sinus lactiferi membuat puting membesar. Pada wanita dewasa yang tidak hamil dapat ditemukan struktur parenkim khas pada kelenjar, lobus, dan memiliki banyak lobulus, yang disebut unit lobular ductus terminalis. Sistem duktus terbenam dalam jaringan ikat vaskular longgar dan jaringan ikat padat yang lebih sedikit mengandung sel dan memisahkan lobus. Setiap lobulus terdiri dari sejumlah duktus bercabang kecil tetapi unit sekretoris yang melekat berukuran kecil dan rudimenter (Mescher, 2012).

Ductus lactiferi dan ductus terminalis dilapisi oleh epitel kuboid selapis yang dilapisi oleh sel mioepitel yang berhimpitan erat. Sinus lactiferi dilapisi epitel kuboid berlapis. Sebaran serat otot polos juga mengelilingi duktus yang lebih besar. Pada saat kadar estrogen mencapai puncak, sel epitel duktus menjadi sedikit lebih kolumnar. Serta pada fase pramenstruasi jaringan ikat payudara menjadi agak edematosa yang membuat payudara agak lebih besar. Kulit yang melapisi puting membentuk areola dan merupakan kulit tipis dengan kelenjar sebacea. Ada lebih banyak melanin pada kulit di areola daripada kulit di bagian lain payudara dan selama masa kehamilan akan bertambah gelap. Ujung saraf sensorik banyak mensuplai kulit puting. Jaringan ikat puting kaya akan serabut

otot polos yang berjalan sejajar dengan sinus lactiferi dan ketika berkontraksi menimbulkan ereksi puting (Mescher, 2012).

Kelenjar mammae mengalami pertumbuhan yang meningkat akibat rangsangan progesteron dan estrogen yang berkepanjangan selama masa kehamilan. Pada awalnya hormon-hormon ini dihasilkan oleh korpus luteum ovarium dan kemudian oleh sel-sel plasenta. Pertumbuhan kelenjar mammae bergantung pada hormon hipofisis prolaktin, kortikoid adrenal, dan laktogen plasenta. Hormon-hormon ini membuat kelenjar mammae berproliferasi secara cepat, bercabang, dan membentuk banyak alveoli dengan cara merangsang duktus intralobularis. Sel mioepitel kontraktile mengelilingi semua alveoli. Alveoli kemudian mengalami hipertrofi dan menjadi tempat aktif pembentukan air susu selama masa menyusui (Eroschenko, 2010).



Gambar 2.2 Perkembangan Alveolar pada Payudara selama Kehamilan (Mescher, 2012)

Sebagai persiapan laktasi, alveoli dan sistem duktus tumbuh dan berkembang selama kehamilan, sedangkan stroma kurang berkembang. Limfosit dan sel plasma menginfiltrasi jaringan ikat longgar dalam lobulus. Pada kehamilan lanjut, sel plasma menjadi lebih banyak dan mulai memproduksi imunoglobulin (IgA sekretoris). Alveoli dan duktus kelenjar melebar oleh

tumpukan kolustrum pada saat kehamilan lanjut. Kolustrum merupakan cairan yang kaya protein, vitamin A, dan elektrolit tertentu yang dihasilkan dalam pengaruh prolaktin. Sel plasma mensintesis antibodi dalam jumlah banyak dan diangkut ke dalam kolostrum. Neonatus memperoleh kekebalan pasif dari kolostrum ini (Mescher, 2012).

Setelah masa kelahiran kadar progesteron dan estrogen dalam darah menurun dan alveoli kelenjar payudara menjadi sangat aktif memproduksi susu, yang terutama dipengaruhi oleh prolaktin dari hipofisis anterior. Sel epitel alveoli membesar dan berperan aktif pada sintesis lipid dan protein untuk disekresi. Di dalam Retikulum Endoplasma(RE) kasar terjadi pembentukan sejumlah besar protein yang diproses melalui apparatus Golgi dan dikemas ke dalam vesikel sekretoris, yang mengalami eksositosis selama sekresi merokrin ke dalam lumen. Droplet lipid sferis yang terutama mengandung kolesterol dan trigliserida netral, terbentuk di sitoplasma sel alveolar, tumbuh pesat melalui penambahan lipid, dan akhirnya menghantarkan sel ke dalam lumen melalui proses sekresi apokrin; selama sekresi ini, droplet menjadi terselubungi oleh sebagian membran sel apikal (Mescher, 2012).

Hormon-hormon yang menghambat sekresi air susu dieliminasi dan kelenjar mammae mulai aktif mengeluarkan air susu setelah persalinan dan lepasnya plasenta. Produksi kolostrum terhenti, saat hormon hipofisis prolaktin mengaktifkan sekresi air susu. Rangsangan taktil puting payudara (*papilla mammae*) oleh hisapan bayi mendorong pengeluaran prolaktin dan produksi air susu saat menyusui bayi baru lahir. Selain itu, pelepasan hormon oksitosin dari neurohipofisis kelenjar pituitaria disebabkan oleh rangsangan taktil puting payudara oleh bayi yang memicu refleks ejeksi air susu. Oksitosin menyebabkan

kontraksi sel mioepitel di sekeliling alveoli sekretorik dan duktus eksretorius di kelenjar payudara, mengakibatkan air susu tersembur keluar dari kelenjar mammae menuju puting payudara (Eroschenko, 2010).

2.5 Carcinoma Mammae

2.5.1 Definisi Carcinoma Mammae

Carcinoma mammae atau kanker payudara merupakan tumor ganas yang menyerang jaringan payudara. Jaringan payudara tersebut terdiri dari saluran kelenjar (saluran air susu), kelenjar susu (kelenjar pembuat air susu), dan jaringan penunjang payudara. Pada *carcinoma mammae* sel dan jaringan payudara bertambah banyak secara tidak terkendali dan berubah bentuk menjadi abnormal (Mardiana, 2007). *Carcinoma mammae* tumbuh relatif cepat membesar dan progresif serta dapat tumbuh destruktif, infiltratif, dan dapat bermetastasis (Apriyani, 2011).

2.5.2 Klasifikasi *carcinoma mammae*

Berdasarkan klasifikasi histologi pada *carcinoma mammae*, digolongkan sebagai berikut :

1. *In situ carcinoma*
 - a. *Ductal carcinoma in situ*
 - *Comedo*
 - *Cribiform*
 - *Micropapillary*
 - *Papillary*
 - *Solid*
 - b. *Lobular carcinoma in situ*

- *Low histological variation*
2. *Invasive carcinoma*
 - a. *Tubular carcinoma*
 - b. *Medullary carcinoma*
 - c. *Invasive lobular carcinoma*
 - d. *Ductal lobular carcinoma*
 - e. *Infiltrating ductal carcinoma*
 - f. *Mucinous (colloid) carcinoma* (Malhotra et al., 2010).

2.5.3 Epidemiologi *Carcinoma Mammae*

Di Indonesia, *carcinoma mammae* menempati urutan kedua setelah kanker leher rahim. Sekitar 10 dari 100.000 penduduk terkena *carcinoma mammae* dan 70% dari penderita memeriksakan dirinya pada keadaan yang telah stadium lanjut (Ana, 2007). Di Inggris 1 dari 10 wanita dari segala umur akan terkena *carcinoma mammae* pada suatu waktu dalam kehidupannya, dan kira-kira 30.000 kasus baru terdiagnosis setiap tahunnya (Buckman dan whittaker, 2010). *Carcinoma mammae* merupakan kanker yang paling sering diderita para wanita di Amerika Serikat dan tingkat mortalitas penyakit ini di kalangan perempuan menempati tingkatan kedua setelah kanker paru-paru (Rubin and Reisner, 2009).

Tahun 2011 diperkirakan ada sekitar 230.480 kasus baru *carcinoma mammae* invasif dan 39.520 kematian yang terjadi karena *carcinoma mammae* pada wanita Amerika Serikat. Dari tahun 2004 sampai 2008, angka kejadian *carcinoma mammae* stabil di antara semua kelompok ras/etnis. Pada wanita Indian Amerika angka kematian pada *carcinoma mammae* masih tetap, padahal

sejak awal 1990-an angka kematian *carcinoma mammae* telah menurun untuk semua perempuan. Perbedaan angka kematian pada *carcinoma mammae* tampak jelas karena pengaruh status sosial ekonomi, negara, dan ras/etnis (De Santis *et al.*, 2011). Diperkirakan pada tahun 2014 di Amerika Serikat, ada sekitar 232,670 kasus baru *carcinoma mammae* invasif pada wanita, dan dengan 2360 diantaranya pada laki-laki. Pada populasi wanita di Amerika Serikat, selain *carcinoma mammae* yang invasif, juga ditemukan sekitar 62.570 kasus baru dengan tipe *in situ carcinoma mammae*, 83% terdiagnosis DCIS dan 11% terdiagnosis LCIS (Stopeck, 2014).

Di awal 1990-an, angka kematian terbesar pada *carcinoma mammae* bergeser dari daerah kaya ke daerah miskin. Pada skrining selanjutnya angka kematian terus meningkat pada wanita miskin dibandingkan wanita tidak miskin meskipun banyak kemajuan dalam penggunaan mammografi. 51,4% perempuan miskin telah menjalani pemeriksaan mammograf dibandingkan dengan 72,8% perempuan yang tidak miskin pada tahun 2008. Langkah yang paling penting yang dapat dilakukan untuk mengurangi penderitaan dan kematian dari *carcinoma mammae* adalah dengan memotivasi penderita berusia 40 tahunan ke atas untuk melakukan pemeriksaan mammografi dan pemeriksaan klinis. Kemajuan dalam pengendalian *carcinoma mammae* yang terus berkembang akan memerlukan upaya berkelanjutan, penyediaan sarana untuk diagnosis yang memadai, proses skrining berkualitas tinggi, dan pengobatan untuk semua penduduk (De Santis *et al.*, 2011).

2.5.4 Faktor Risiko *Carcinoma Mammae*

Dalam proses kehidupan, kesalahan dalam replikasi DNA tidak dapat dihindari. Namun perilaku atau keadaan tertentu yang disebut faktor risiko dapat menurunkan atau meningkatkan kemungkinan munculnya suatu mutasi dan dipromosikannya sel yang bermutasi sampai menjadi sel kanker. Faktor risiko kanker antara lain pajanan bahan kimiawi, fisik, atau virus yang diketahui bersifat mutagenik, dan pajanan berkepanjangan ke suatu promotor. Mutagen dapat tertelan, terhirup, atau bekerja di kulit, contohnya seperti radiasi ultraviolet (Corlin, 2009).

Faktor risiko yang terjadi pada *carcinoma mammae* dapat dikelompokkan menjadi dua, yaitu faktor yang tidak dapat diubah dan yang dapat diubah. Faktor risiko yang tidak dapat diubah antara lain seperti riwayat keluarga yang menderita kanker, status menstruasi (menopause dan menarkhe), genetik, riwayat tumor jinak dan kanker sebelumnya, tidak melahirkan, dll. Sementara itu, faktor risiko yang dapat diubah antara lain seperti riwayat menyusui, obesitas, trauma, alkohol, oral kontrasepsi, dll (Noviani, 2007).

2.5.4.1 Faktor Risiko yang Tidak Dapat Dikendalikan

2.5.4.1.1 Jenis Kelamin

Wanita adalah faktor risiko terbesar dalam pengembangan *carcinoma mammae*. Ada sekitar 190.000 kasus baru *carcinoma mammae* invasif dan 60.000 kasus baru *carcinoma mammae* non-invasif pada wanita Amerika Serikat. Sedangkan dalam perkembangannya, kasus *carcinoma mammae* yang terjadi pada laki-laki kurang dari 1% dari semua kasus *carcinoma mammae*. Di Amerika Serikat terdapat 2000 kasus baru yang terdiagnosis pada tahun 2013.

Alasan terbesar perbedaan pada kasus *carcinoma mammae* yang terjadi pada laki-laki dan wanita, yaitu :

- Perkembangan *mammae* wanita antara 3 sampai 4 tahun dan biasanya selesai pada usia 14 tahun. Ini jarang terjadi pada *mammae* laki-laki sampai membentuk secara penuh, sebagian besar *mammae* laki-laki adalah lemak, bukan membentuk kelenjar.
- Setelah sepenuhnya terbentuk, sel *mammae* sangat aktif sampai kehamilan bulan pertama pada seorang wanita. Saat masih immature, sel *mammae* pada perempuan sangat responsif pada estrogen dan hormon lainnya, termasuk *disrupters hormone* yang ada di lingkungan.
- Sel *mammae* pada laki-laki tidak aktif dan sebagian besar laki-laki memiliki hormon estrogen yang sangat rendah.

Jadi stimulasi hormon pada sel *mammae* perempuan sangat responsif dan peka, terutama pada periode yang ekstra sensitif saat perkembangan *mammae* terjadi. Ini menjadi alasan mengapa *carcinoma mammae* lebih sering terjadi pada wanita daripada laki-laki (Breast Cancer organization, 2013).

2.5.4.1.2 Usia

Pertambahan usia merupakan salah satu faktor risiko *carcinoma mammae*. Meskipun *carcinoma mammae* dapat terjadi pada awal menstruasi, penyakit ini secara umum merupakan penyakit penuaan. Pada wanita usia 30 tahun, risiko terkena *carcinoma mammae* adalah sekitar 1 dari 250 orang sedangkan pada usia 70 tahun angka kejadiannya 1 dari 30 orang. Kebanyakan *carcinoma mammae* terdiagnosa setelah masa menopause dan 75% dari kasus

carcinoma mammae terjadi setelah usia 50 tahun. Usia diperkirakan menjadi faktor dalam akumulasi kerusakan DNA selama hidup (NBOCC, 2009).

2.5.4.1.3 Genetik

Sekitar 5% sampai 10% dari semua *carcinoma mammae* kemungkinan disebabkan oleh mutasi genetik yang diturunkan. Sindrom *carcinoma mammae* familial yang berkaitan dengan gen kromosom 13 disebut *BRCA-2*. (Price and Wilson, 2006)

Beberapa negara industri di barat , hanya kira-kira 10% *carcinoma mammae* yang disebabkan oleh mutasi genetik yang bersifat keturunan. Jenis *carcinoma mammae* yang bersifat keturunan disebabkan oleh mutasi gen-gen *BRCA*. Biasanya mutasi diturunkan oleh pihak ayah maupun ibu, dan paling sering di dapatkan pada wanita keturunan Yahudi Askhenazi dan Islandia. Biasanya wanita yang mempunyai kecenderungan genetik terkena *carcinoma mammae* akan mengidap penyakit ini pada usia sebelum 50 tahun (Lee, *et al.*, 2008).

2.5.4.1.4 Riwayat Keluarga

Carcinoma mammae berisiko lebih tinggi pada wanita yang memiliki kerabat dari hubungan darah yang memiliki penyakit ini. Mempunyai kerabat satu tingkat pertama (ibu, adik, atau anak perempuan) dengan *carcinoma mammae*, menambah faktor risiko menjadi 2 kali lipat seorang untuk terkena *carcinoma mammae*. Risiko pasti tidak dapat diketahui, tetapi wanita dengan riwayat keluarga *carcinoma mammae* pada seorang ayah atau saudara juga mempunyai peningkatan risiko *carcinoma mammae* . Secara keseluruhan, kurang dari 15% wanita dengan *carcinoma mammae* mempunyai anggota keluarga yang juga

menderita penyakit ini. Ini menunjukkan bahwa sebagian besar (lebih dari 85%) wanita dengan *carcinoma mammae* tidak mempunyai riwayat keluarga yang menderita *carcinoma mammae* (ACS, 2014).

2.5.4.1.5 Ras dan Etnis

Ras Asia baik negara industri ataupun tidak, mempunyai tingkat jumlah penderita *carcinoma mammae* yang lebih sedikit dibandingkan Amerika Utara atau Eropa. Namun jumlah kasus *carcinoma mammae* pada wanita Asia yang pindah ke Amerika Utara mengalami peningkatan hingga menjadi setara dengan penduduk Amerika Utara dalam jarak waktu dua generasi, hingga menunjukkan bahwa apapun yang terjadi di lingkungan Amerika Utara mengalahkan perlindungan apa pun yang diberikan oleh gen (Lee, *et al.*, 2008).

Angka kematian karena *carcinoma mammae* pada wanita di Gambia hanya sebesar 3,4 per 100.000 wanita. Polandia mempunyai angka kematian 38,7 per 100.000 dan Belanda mempunyai angka kematian 72,7 per 100.000. Angka kematian wanita kulit putih di Amerika Serikat yang disebabkan oleh *carcinoma mammae* adalah 89,2 per 100.000 wanita. Israel sempat menjadi salah satu negara dengan angka kematian tertinggi akibat *carcinoma mammae*. Tetapi setelah beberapa tahun, angka kematian karena *carcinoma mammae* turun sebesar 8% setelah pemerintah setempat melarang penggunaan tiga pestisida *organochlorine* (Dichloro-Diphenyl-Trichloroethane/DDT, benzene hexachlorida/BHC, dan lindane (Lee, *et al.*, 2008).

2.5.4.1.6 Kepadatan Jaringan *Mammae*

Mammae terbentuk dari jaringan lemak, jaringan fibrosa, dan jaringan kelenjar. Dikatakan memiliki payudara yang padat ketika ada lebih banyak jaringan kelenjar dan jaringan fibrosa serta memiliki sedikit jaringan lemak. Wanita yang diketahui memiliki payudara padat yang dapat terlihat pada mammogram memiliki risiko *carcinoma mammae* 1,2 sampai 2 kali lebih tinggi dari wanita lain yang memiliki kepadatan payudara rata-rata. Akan tetapi, jaringan payudara yang padat membuat mammogram kurang akurat. Beberapa faktor bisa mempengaruhi kepadatan payudara seperti status menopause, kehamilan, usia, genetika, obat-obatan tertentu (ACS, 2014).

2.5.4.1.7 Riwayat Pribadi *Carcinoma Mammae*

Wanita dengan kanker pada salah satu payudaranya memiliki 3 sampai 4 kali kemungkinan peningkatan risiko pertumbuhan kanker baru pada payudara yang lain. Ini berbeda dari kekambuhan kanker yang pertama (ACS, 2014).

2.5.4.1.8 Kondisi *Mammae* Jinak Tertentu

Wanita yang didiagnosis dengan tumor *mammae* jinak kemungkinan memiliki risiko untuk berkembang menjadi *carcinoma mammae*. Dokter sering membagi *mammae* jinak menjadi 3 golongan, yang tersebut dibawah ini :

- Lesi non-proliferasi : kondisi ini tidak berhubungan dengan pertumbuhan jaringan payudara. Lesi ini tidak berpengaruh pada risiko *carcinoma mammae*, ataupun jika ada sangat kecil.

- Lesi proliferasi tanpa atipia : kondisi ini memperlihatkan pertumbuhan yang berlebih pada sel duktus atau lobulus pada jaringan payudara. Kondisi ini berisiko rendah untuk menjadi *carcinoma mammae* pada wanita.
- Lesi proliferasi dengan atipia : pada kondisi ini, terjadi pertumbuhan yang berlebihan di sel duktus atau lobulus pada jaringan payudara, dengan beberapa sel yang tidak normal. Hal ini berisiko tinggi untuk menjadi *carcinoma mammae*, meningkat 3,5 sampai 5 kali lebih tinggi daripada normal (ACS, 2014).

2.5.4.1.9 Lobular Carcinoma in Situ

Pada *Lobular Carcinoma in Situ* (LCIS) sel kanker tumbuh pada lobulus dari kelenjar mammae, tetapi belum menembus membrana. LCIS (disebut juga neoplasma lobular) kadang dikelompokkan dengan *Ductal Carcinoma in Situ* (DCIS) sebagai *carcinoma mammae* non invasif, tapi berbeda pada DCIS yang dapat menjadi kanker yang invasif jika tidak diobati. Wanita dengan LCIS memiliki 7 sampai 11 kali lipat peningkatan risiko dalam pertumbuhan kanker invasif pada kedua payudara (ACS, 2014).

2.5.4.1.10 Ductal Carcinoma in Situ

Sebagian besar (83%) *carcinoma mammae in situ* adalah *Ductal Carcinoma in Situ* (DCIS). DCIS berawal dari sel-sel yang melapisi duktus mammae. Meskipun DCIS tidak bisa menyebar ke bagian lain dari tubuh atau menyebabkan penyakit yang serius atau kematian, tapi jika tidak ditangani bisa menjadi kanker yang invasif. Suatu penelitian menemukan bahwa 20% sampai

53% wanita dengan DCIS yang tidak diobati akhirnya akan menjadi *carcinoma mammae* invasif (ACS, 2014).

2.5.4.1.11 Periode Menstruasi

Wanita yang memulai menarkhe lebih awal (sebelum umur 12) dan/atau yang telat masa menopausenya (setelah umur 55) memiliki faktor risiko yang lebih tinggi untuk menderita *carcinoma mammae*. Peningkatan ini mungkin karena risiko paparan terhadap hormon estrogen dan progesteron yang lama (ACS, 2014).

2.5.4.2 Faktor Risiko yang Berkaitan dengan Gaya Hidup

2.5.4.2.1 Kehamilan

Wanita yang mempunyai anak setelah usia 30 tahun mempunyai risiko terkena *carcinoma mammae* 5 kali lipat lebih tinggi dibanding dengan wanita yang hamil sebelum berusia 24 tahun. Wanita yang tidak pernah melahirkan memiliki faktor risiko terkena *carcinoma mammae* lebih tinggi dibandingkan dengan wanita yang mempunyai satu atau dua anak (Lee, *et al.*, 2008).

2.5.4.2.2 Penggunaan Alat Kontrasepsi

Salah satu faktor yang berisiko kuat terkena *carcinoma mammae* adalah penggunaan alat kontrasepsi (pil ataupun suntik) pada wanita usia muda. Semakin muda usia saat mengonsumsi alat kontrasepsi tersebut, maka semakin tinggi risiko terkena *carcinoma mammae*. Wanita dibawah 18 tahun yang mengonsumsi alat kontrasepsi oral meningkatkan risiko tiga kali lipat terkena *carcinoma mammae*. Wanita yang berusia 30 tahun ke atas, yang mengonsumsi

pil pengatur kelahiran yang berasal dari testosteron, seperti norgestrel, memberikan sejenis perlindungan terhadap *carcinoma mammae*. Sedangkan, bagi wanita yang berusia lebih dari 20 tahun dengan mengonsumsi alat kontrasepsi oral jangka panjang dan untuk sepuluh tahun sesudahnya, berisiko sedikit lebih tinggi terkena *carcinoma mammae* (ACS, 2014).

2.5.4.2.3 Pola Makan

Di negara yang penduduknya mengonsumsi lebih banyak lemak, angka kejadian *carcinoma mammae* lebih tinggi, namun hal ini belum tentu merupakan korelasi yang bersifat langsung. Lemak yang mudah teroksidasi mempunyai potensi membahayakan, karena jenis lemak ini lebih mudah menciptakan radikal bebas. Sebuah penelitian di Italia, kebanyakan penduduknya mengonsumsi minyak zaitun tunggal tak jenuh (monounsaturated), menemukan bahwa bukan lemak, namun karbohidratlah yang mempunyai risiko lebih besar.

Dalam beberapa penelitian disimpulkan bahwa hormon dan pestisida yang terdapat dalam lemak daging menyebabkan angka pertumbuhan penderita *carcinoma mammae* menjadi lebih besar dan bukan lemaknya itu sendiri. Meskipun belum ada penelitian secara epidemiologis, namun jelas bahwa pola makan yang kaya gula, karbohidrat sederhana, dan asam trans-lemak, membuat banyak ketidakseimbangan dalam tubuh, termasuk dalam hormon steroid seks dan insulin, yang berperan dalam masalah *carcinoma mammae*.

Susu sapi yang mengonsumsi obat perangsang untuk produksi susu yang disebut rBGH (*recombinant bovine growth hormone*) bisa meningkatkan risiko terkena *carcinoma mammae*. Sejumlah penelitian saat ini membuktikan bahwa cara memasak daging mempengaruhi risiko terkena *carcinoma mammae*. Proses

menggoreng, memanggang daging di atas api, atau membakar daging dengan panas yang berkisar antara 148° sampai 260° celcius, akan menghasilkan senyawa yang disebut *heterolic amines* (HCAs) (Lee, *et al.*, 2008).

2.5.4.2.4 Alkohol

Berdasarkan penelitian di Finlandia, wanita yang mengonsumsi alkohol dan juga menggunakan alat kontrasepsi oral mempunyai kadar estradiol yang tinggi dan kadar progesteronnya menjadi rendah. Wanita yang mengonsumsi alkohol lebih dari satu botol perhari memiliki risiko *carcinoma mammae* yang lebih tinggi (Lee, *et al.*, 2008).

2.5.4.2.5 Olahraga

Penelitian dari *Harvard Nurse's Health Study* yang menganalisis data dari 166.388 wanita, mendapati bahwa mereka yang melakukan olahraga yang cukup sebanyak tujuh jam per minggu atau lebih, memiliki risiko *carcinoma mammae* 20% lebih rendah daripada wanita yang berolahraga kurang dari satu jam per minggu (Lee, *et al.*, 2008).

2.5.4.2.6 Bahaya di Tempat Kerja

Penelitian di Swedia berteori bahwa ada beberapa pekerjaan yang meningkatkan risiko terkena *carcinoma mammae* seperti, jenis pekerjaan yang tidak terlalu banyak gerak, berhadapan dengan medan elektromagnetik (*Electromagnetic Fields-EMF*), pekerja di bidang produksi kecantikan, berhadapan dengan bahan beracun seperti logam berat, pelarut, dan pewarna rambut (Lee, *et al.*, 2008).

2.5.4.2.7 *Hormon Replacement Therapy*

Hampir seluruh dokter dan ginekolog di Amerika Serikat menegaskan bahwa mengonsumsi *Hormon Replacement therapy* (HRT) dalam dosis tinggi akan memiliki risiko adanya benjolan pada payudara atau *carcinoma mammae*. Efek ini mungkin karena dosis estrogen yang berlebih yang diberikan pada wanita menopause, maupun karena efek beracun progestin terhadap jaringan organ payudara (Lee, *et al.*, 2008).

2.5.5 *Grading Carcinoma Mammae*

Secara patologis, *grading carcinoma mammae* dibagi berdasarkan pada formasi tubulus, pleomorfisme inti sel, dan mitosis. *Grade* dapat membantu memprediksi prognosis. Secara umum, *grade* yang rendah mengindikasikan pertumbuhan yang lambat dengan kecenderungan kurang menyebar, sedangkan *grade* yang tinggi mengindikasikan pertumbuhan yang cepat dan lebih mungkin untuk menyebar. *Grading* pada tumor digunakan untuk menentukan penanganan lebih lanjut yang dilakukan setelah operasi. Untuk kanker yang invasif, *grading* pada histologi tumor sering diklasifikasikan menurut sistem seperti *Bloom-Richardson grade system*, *Nottingham grade system*, *Scarff-Bloom-Richardson grade system*, atau *Elston-Ellis grade system* (ACS, 2014).

DCIS juga memiliki *grading* tersendiri yaitu berdasarkan pleomorfisme dan mitosis. Adanya nekrosis juga sebagai catatan. *Comedocarcinoma* ialah istilah yang sering dipakai untuk menggambarkan DCIS dengan nekrosis yang menonjol. *Comedonecrosis* ialah lobular *carcinoma* yang mengandung bahan

nekrosis dibagian sentral. Istilah *comedocarcinoma* dan *comedonecrosis* berhubungan dengan *grading* yang lebih tinggi dari DCIS (ACS, 2014).

Dalam menentukan *grading*, biasanya memakai modifikasi *Bloom-Richardson grade system* dengan *Nottingham grade system* yang berdasarkan :

1. Bentuk tubular

- Nilai 1 : bentuk tubular >75%
- Nilai 2 : bentuk tubular 10% - 75%
- Nilai 3 : bentuk tubular <10%

2. Pleomorfisme inti sel

- Nilai 1 : inti sel dengan variasi minimal pada ukuran dan bentuknya
- Nilai 2 : inti sel dengan variasi sedang pada ukuran dan bentuknya
- Nilai 3 : inti sel dengan variasi luas pada ukuran dan bentuknya

3. Hitung mitosis

- Nilai 1 : jika ditemukan 0-5 mitosis/10 lpb
- Nilai 2 : jika ditemukan 6-10 mitosis/10 lpb
- Nilai 3 : jika ditemukan >11 mitosis/10 lpb

Penilaian dengan cara menjumlah dari ketiga poin tersebut.

- *Grade I* jika jumlahnya 3 sampai 5
- *Grade II* jika jumlahnya 6 sampai 7
- *Grade III* jika jumlahnya 8 sampai 9 (Rosai, 2011).

2.5.6 Tes untuk Mengklasifikasikan *Carcinoma Mammæ*

2.5.6.1 Reseptor Estrogen dan Reseptor Progesteron

Reseptor adalah protein yang ada dalam sel yang dapat berikatan dengan substansi tertentu, seperti hormon. Sel payudara normal dan beberapa

sel *carcinoma mammae* mempunyai reseptor yang menempel pada estrogen dan progesteron. Dua hormon ini yang sering berperan pada perkembangan *carcinoma mammae*. Semua *carcinoma mammae* yang invasif harus diuji dengan kedua reseptor hormon ini baik pada sampel biopsi ataupun saat pengangkatan kanker dengan operasi. Sekitar 2 dari 3 *carcinoma mammae* setidaknya memiliki salah satu reseptor ini. Presentase ini lebih tinggi pada wanita yang telah mengalami menopause daripada wanita yang lebih muda. DCIS harus diperiksa untuk reseptor estrogen juga (ACS, 2014).

2.5.6.2 Pemeriksaan HER2/neu

Sekitar 1 dari 5 *carcinoma mammae* memiliki pertumbuhan *protein promoter* berlebihan yang disebut dengan HER2/neu (HER2). Gen HER2/ neu memerintahkan sel untuk membuat protein. Tumor dengan peningkatan HER2/ neu disebut sebagai HER2-positif. Kanker yang HER2-positif memiliki banyak salinan HER2/ neu, menghasilkan gen yang lebih besar daripada yang normal. Kanker dengan HER2-positif cenderung tumbuh dan menyebar secara agresif daripada *carcinoma mammae* yang lainnya (ACS, 2014).

2.5.7 Stadium Carcinoma Mammae

Stadium kanker didasarkan atas kanker yang invasif dan non-invasif, ukuran kanker, banyaknya metastasis ke Kelenjar Getah Bening (KGB), dan metastasis ke organ yang lain. Stadium kanker merupakan salah satu faktor yang penting dalam penentuan prognosis dan pemilihan terapi. Penentuan stadium kanker merupakan proses yang dipakai untuk mengetahui seberapa luas penyebaran kanker itu ketika didiagnosis (ACS, 2014).

Sistem yang paling sering dipakai untuk menentukan stadium pada *carcinoma mammae* adalah sistem TNM AJCC (*American Joint Committee on Cancer*). Sistem stadium TNM mengklasifikasikan kanker berdasarkan stadium T, N, dan M :

- Huruf T diikuti dengan angka dari 0 sampai 4 menggambarkan ukuran tumor dan penyebaran ke kulit atau dinding dada dibawah mammae. Tumor yang lebih besar dan/atau yang menyebar ke jaringan lebih luas di dekat mammae ditandai dengan angka T yang lebih tinggi.
- Huruf N diikuti dengan angka dari 0 sampai 3 mengindikasikan apakah kanker sudah menyebar ke kelenjar getah bening (KGB) yang ada didekat mammae, dan jika sudah menyebar, seberapa banyak KGB yang sudah terkena.
- Huruf M diikuti dengan angka dari 0 sampai 1 mengindikasikan apakah kanker sudah menyebar ke organ yang jauh , seperti paru ataupun tulang (ACS, 2014).

2.5.7.1 Kategori Tumor Primer

Tabel 2.1 Kategori Tumor Primer

KATEGORI	PENJELASAN
TX	Tumor primer tidak dapat dinilai
T0	Tidak ada bukti tumor primer
Tis	<i>Carcinoma in situ</i> (LCIS, DCIS, atau <i>paget disease</i> pada puting tanpa massa tumor yang berhubungan)
T1 (termasuk T1a, T1b, T1c)	Tumor 2 cm (3/4 inci) atau kurang
T2	Tumor yang lebih dari 2 cm tetapi tidak lebih dari 5 cm (2 inci)
T3	Tumor yang lebih dari 5 cm
T4 (termasuk T4a, T4b, T4c, T4d)	Tumor dengan ukuran apapun yang tumbuh ke dalam dinding dada atau kulit. Termasuk <i>carcinoma mammae inflammatory</i>

(ACS, 2014)

2.5.7.2 Status Kelenjar Getah Bening (KGB) terdekat

Tabel 2.2 Status Kelenjar Getah Bening

KATEGORI	PENJELASAN
NX	KGB tidak dapat dinilai (contohnya ketika sudah dilakukan pengangkatan sebelumnya)
NO	Kanker tidak menyebar ke KGB terdekat
	NO (i +) : sejumlah kecil kanker yang ditemukan di KGB aksila dengan pewarnaan khusus. Area penyebaran kanker berisi kurang dari 200 sel dan lebih kecil dari 0,2 mm NO (mol +) : kanker sel tidak bisa dilihat di KGB aksila (meskipun menggunakan pewarnaan khusus), akan tetapi penggunaan tes khusus (PCR) dapat mendeteksi penyebaran kanker sel
N1	Kanker telah menyebar ke 1 sampai 3 KGB aksila, dan/atau sejumlah kecil kanker ditemukan di KGB dalam mammae pada <i>sentinel lymph node biopsy</i>
	N1mi : mikrometastase 1 sampai 3 pada KGB di bawah lengan. Area penyebaran kanker pada KGB 2 mm atau kurang (tetapi sel kanker setidaknya 200 atau 0,2 mm)
	N1a : kanker menyebar 1 sampai 3 pada KGB di bawah lengan dengan setidaknya satu penyebaran lebih besar dari 2 mm
	N1b : kanker telah menyebar pada KGB dalam mammae tetapi penyebarannya hanya dapat ditemukan pada <i>Sentinel Lymph Node Biopsy</i>
	N1c : gabungan N1a dan N1b
N2	Kanker sudah menyebar 4 sampai 9 pada KGB di bawah lengan atau kanker menyebabkan pembesaran KGB dalam mammae membesar (baik N2a atau N2b tetapi tidak keduanya)
	N2a : kanker sudah menyebar ke 4 sampai 9 KGB di bawah lengan, dengan setidaknya satu penyebaran kanker lebih besar dari 2 mm
	N2b : kanker sudah menyebar ke satu atau lebih KGB di dalam mammae menyebabkan KGB dalam mammae membesar
N3	N3a : salah satu dari : <ul style="list-style-type: none"> Kanker sudah menyebar ke 10 atau lebih KGB aksila, dengan setidaknya satu penyebaran kanker lebih besar dari 2 mm, atau Kanker sudah menyebar ke KGB dibawah klavikula, dengan setidaknya satu penyebaran kanker lebih besar dari 2 mm
	N3b : salah satu dari : <ul style="list-style-type: none"> Kanker ditemukan setidaknya satu pada KGB aksila dan sudah membesar ke KGB interal mammary, atau Kanker telah menyebar pada 4 atau lebih KGB aksila, dan setidaknya kanker ditemukan di KGB internal mammary pada <i>Sentinel Lymph Node Biopsy</i>
	N3c : salah satu dari : kanker sudah menyebar ke KGB di atas klavikula dengan setidaknya satu area penyebaran kanker lebih besar dari 2 mm

(ACS,2014)

2.5.7.3 Metastase (M)

Tabel 2.3 Metastase

KATEGORI	PENJELASAN
MX	penyebaran (metastase) ke organ jauh tidak dapat dinilai
M0	penyebaran ke organ yang jauh tidak ditemukan pada x-ray atau dengan pemeriksaan fisik cM0(i +) : sejumlah kecil sel kanker ditemukan pada darah dan sumsum tulang, atau sedikit area penyebaran pada KGB yang jauh dari payudara
M1	kanker menyebar pada organ yang jauh seperti tulang, otak, dll.

(ACS, 2014)

2.5.8 Faktor Prognosis *Carcinoma Mammae*

Untuk pertimbangan ketika merancang strategi pengobatan yang optimal pada pasien kanker, beberapa karakteristik dari kanker tersebut menentukan faktor prognostiknya. Karakteristik tersebut adalah :

- Ukuran tumor

Meskipun secara umum tumor yang berukuran kecil memiliki hasil yang lebih baik, tapi terkadang ukuran tidak selalu memberikan gambaran keseluruhan tentang seberapa cepat tumor itu berkembang.

- Usia pasien

Carcinoma mammae yang terjadi pada usia muda, biasanya memiliki stadium dan *grade* yang tinggi, fenotip yang lebih agresif, dan prognosis yang lebih buruk.

- Tingkatan histologi (*grading*)
- Keberadaan HER2-neu (C-erb B2)

Kanker dengan peningkatan HER2/ neu disebut sebagai HER2-positif.

Kanker dengan HER2-positif cenderung tumbuh dan menyebar secara agresif daripada *carcinoma mammae* yang lainnya.

- Keberadaan tumor gen supresor p53 dan bcl-2

Gen supresor tumor p53 yang bersifat normal akan mengontrol siklus pembelahan dan mendorong sel untuk melakukan penghancuran diri secara terprogram.

- Status kelenjar getah bening aksila

70% - 80% pasien dengan status KGB negatif akan bertahan hidup 10 tahun. Sekitar 40% - 50% pasien dengan 1 sampai 3 kelenjar getah bening positif bertahan hidup 10 tahun, sedangkan hanya 15% dari mereka dengan lebih dari 4 nodul yang mampu bertahan hidup dengan pembedahan saja. Prognosis akan memburuk seiring dengan meningkatnya jumlah KGB yang positif. Status KGB aksila merupakan prediktor paling penting dari kekambuhan kanker dan kelangsungan hidup.

- Status reseptor estrogen dan status reseptor progesteron. Penderita dengan reseptor estrogen dan reseptor progesteron negatif memiliki tingkat kekambuhan lebih tinggi dan kelangsungan hidup lebih rendah dibandingkan dengan reseptor estrogen dan reseptor progesteron positif (WHO, 2006); (Tichy, et al., 2012); (Syaifudin, 2004); (Breast Cancer Care, 2014); (ACS, 2014).

2.5.9 Manajemen Diagnosis

2.5.9.1 Anamnesa

Diagnosis dapat ditegakkan melalui penggalian riwayat penyakit (anamnesis) dan pemeriksaan klinis.

Riwayat penyakit ditemukan:

1. Gejala :

- Massa di payudara
 - Nyeri di payudara
 - Cairan di puting
 - Retraksi di kulit atau puting
 - Massa atau sakit di aksila
 - Pembengkakan lengan
 - Gejala yang memungkinkan untuk metastasis
 - Temuan mencurigakan di pemeriksaan mammografi rutin.
2. Riwayat penyakit dahulu pada payudara secara rinci
 3. Riwayat keluarga dengan *carcinoma mammae* atau kanker yang lainnya dengan penekanan pada kanker ginekologi.
 4. Riwayat reproduksi :
 - Usia pada saat menarke
 - Usia saat persalinan pertama
 - Jumlah kehamilan/anak dan keguguran
 - Usia saat onset menopause
 - Riwayat penggunaan hormon seperti pil kontrasepsi (jenis dan durasi) dan terapi pengganti hormon (jenis dan durasi).
 5. Riwayat penyakit dahulu (WHO, 2006).

2.5.9.2 Pemeriksaan Fisik

Pemeriksaan fisik harus teliti dan mencakup hal-hal berikut :

1. Status/keadaan klinis pasien secara umum
2. Berat dan tinggi badan pasien
3. Pemeriksaan medis secara umum pada sistem yang lain

4. Pemeriksaan lokal

- Massa di payudara
 - Ukuran
 - Lokasi
 - Bentuk
 - Konsistensi
 - Fiksasi pada kulit, otot dada, dan dinding dada
 - Jumlah
- Perubahan pada kulit
 - Eritema (lokasi dan luas)
 - Oedema (lokasi dan luas)
 - Dimpling (permukaan yang tertarik/cekung)
 - Ulserasi
 - Nodul satelit
- Perubahan pada puting
 - Retraksi
 - Eritema
 - Erosi dan ulserasi
 - *Discharge* (pus atau darah)
- Status nodul
 - Kelenjar aksila pada kedua sisi (jumlah, ukuran, lokasi, dan fiksasi kelenjar lain)
 - Kelenjar supraklavikula
- Pemeriksaan lokal yang memungkinkan mengetahui lokasi metastasis (WHO, 2006).

2.5.10 Vimentin

Vimentin adalah polipeptida yang terdiri dari 446 asam amino dengan α -helical "rod" yang diapit oleh non α -helical N- dan C-terminal. Vimentin berfungsi sebagai substrat yang sangat baik untuk sejumlah kinase in vitro dan beberapa situs fosforilasi pada vimentin yang telah diidentifikasi. Fosforilasi vimentin dikaitkan dengan konsekuensi fungsional termasuk regulasi struktur IF. Namun, mutagenesis terarah dari situs-situs tersebut tidak menunjukkan efek yang signifikan pada pembentukan filamen, itu menunjukkan bahwa fosforilasi terutama mengatur tentang pembongkaran vimentin (Satelli and Li, 2012)

Vimentin merupakan salah satu protein yang membentuk filamen intermediet dengan berat molekul 57 kD. Vimentin merupakan bagian dari kerangka sel (sitoskeleton) yang ditemukan dalam sel yang secara embrional berasal dari mesenkim dan diekspresikan oleh sel epitel, termasuk sel epitel endometrium (Sofian and Kampono, 2006). Vimentin berperan dalam peningkatan *epidermal growth factor receptor* yang berhubungan dengan proliferasi sel dan onkogenesis. Ekspresi vimentin tampak terlihat pada *carcinoma mammae* dengan prognosis yang buruk (Domagala *et al.*, 1990). Vimentin juga berperan dalam sel epitel yang terlibat dalam pembentukan embrio dan proses organogenesis, plasentasi, serta invasi tumor (Gilles, 1999).

Ekspresi vimentin terbukti meningkat pada beberapa jenis sel *carcinoma mammae* yang agresif, ini menunjukkan adanya korelasi antara vimentin dengan peningkatan migrasi dan invasi sel kanker payudara. Pemeriksaan histologis dari sampel *carcinoma mammae* manusia menunjukkan bahwa ekspresi vimentin yang dominan ditemukan di duktal karsinoma *high grade* dengan tingkat reseptor

estrogen yang rendah. Beberapa penelitian lain juga telah melaporkan ekspresi vimentin pada sel dan jaringan *carcinoma mammae*. Studi terbaru melaporkan bahwa vimentin memiliki peran utama dalam proses *epithelial-mesenchymal transition* (EMT) *carcinoma mammae* dan *knock-down* yang mengakibatkan penurunan gen terkait dengan invasi *carcinoma mammae* dan fenotip basal termasuk *Axl*, *ITGB4* dan *Plau* dengan peningkatan berikutnya dalam gen yang melimpah di epitel *mammae* yang normal termasuk *RAB25* dan *EHF* (Satelli and Li, 2012).

Sebuah penelitian menyatakan, 7,7% dari semua kasus kanker mengekspresikan vimentin. Ekspresi vimentin juga terlihat pada masing-masing komponen *in situ* dan berkorelasi secara positif dengan SMA, CD10, CK 5, p53, Mib-1, dan EGFR. Korelasi negatif terlihat pada ekspresi CK 8/18 dan reseptor estrogen. Ekspresi vimentin pada *carcinoma mammae* mungkin diturunkan oleh sel-sel progenitor payudara dengan potensial diferensiasi bilinear (myoepithelial dan glandular) (Korsching et al., 2005).

2.6 Prosedur Pembuatan Preparat Sel *Carcinoma Mammae* dengan Pengecatan Imunohistokimia Vimentin

2.6.1 Bahan

- Ethanol
- Air
- H₂O₂
- Larutan DIVA
- PBS

- Background Sniper
- Primary antibody
- Secondary antibody (Universal Link)
- Trekavidin HRD Label
- Metazoid DAB substrate buffer
- Bahan pengecatan haematoxilin-eosin
- Lithium carbonat
- Alkohol 80%, 96%, xylol

2.6.2 Alat

- Objek glass
- Waterbath
- Incubator
- Decloaking chamber
- Mikrotom
- Mikroskop
- Hotplate



2.7 Cara kerja

Prosedur pemeriksaan imunohistokimia (Patologi anatomi rumah sakit syaiful anwar malang)

1. Sediaan dipotong dengan microtome setebal 4 s/d 5 micron
2. Lekatkan pada objek glass yang telah dicoating
 - Harap diperhatikan penomoran preparat dan nama antibodi
 - Lama waktu saat dalam *waterbath*

- Suhu waterbath 56°C - 57°C

3. Simpan dalam inkubator 38°C s/d 40°C agar lebih kuat melekat
Sebelum proses pewarnaan keringkan dan panaskan diatas hotplate selama 1 jam
4. Deparafinisasi dengan Xylol I;II;III masing-masing 3 menit
5. Masukkan dalam ethanol. Alk 90% ; 80% masing-masing 2-3 menit
6. Cuci dengan air mengalir 2-3 menit
7. Masukkan H₂O₂ dalam methanol 0,5% (100 methanol + 1,6ml H₂O₂) selama 20 menit
8. Cuci dengan air mengalir 2-3 menit
9. Antigen retrieval rendam dalam larutan DIVA. Panaskan dalam Decloaking Chamber
10. Dinginkan dalam suhu ruangan 20 s/d 30 menit
11. Rendam dengan PBS 2-5 menit
12. Letakkan slide dalam moisture chamber dan beri pembatas pada sekeliling sediaan dengan PAP pen. Teteskan BACKGROUND SNIPER 10-15 menit
13. Teteskan primary antibody, incubasi 60 menit
14. Cuci dengan PBS 3-5 menit
15. Teteskan secondary antibody (UNIVERSAL LINK), incubasi 10 menit
16. Cuci dengan PBS 3-5 menit
17. Teteskan TREKAVIDIN-HRP LABEL, incubasi 10 menit
18. Cuci dengan PBS 3-5 menit
19. Teteskan DAN incubasi 2-4 menit (1ml BETAZOID DAB SUBSTRATE BUFFER tambah 1-2 tetes DAB Chromogen)
20. Cuci dengan air mengalir 5-7 menit

21. Counterstain dengan mayers haematoxilin 2 s/d 3 menit

Rendam dalam lithium carbonat jenuh 2-3 menit

22. Cuci dengan air mengalir 5-7 menit

23. Dehidrasi dengan alkohol 80% ; 96% ; alk absolut s/d xylol I;II;III masing-masing 3 menit

24. Mounting

