

**ANALISIS KADAR *MATRIX METALLOPROTEINASE-2* (MMP-2)
PADA PENDERITA *CARCINOMA MAMMAE***

***(Analysis of Matrix Metalloproteinase-2 (MMP-2) Level
in Breast Cancer Patients)***

BESSE ROSMIATI

NO POKOK : P1507209060



**PASCASARJANA KEDOKTERAN
PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS TERPADU
(COMBINED DEGREE)**

PROGRAM STUDI ILMU PATOLOGI KLINIK

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2012

PRAKATA

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT yang Maha Pemurah, Maha Pengasih dan Maha Penyayang atas limpahan kasih dan anugerahNya sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis yang berjudul “ **ANALISIS KADAR *MATRIX METALLOPROTEINASE-2 (MMP-2)* PADA PENDERITA *CARCINOMA MAMMAE***” sebagai salah satu persyaratan dalam Program Pendidikan Dokter Spesialis Patologi Klinik maupun Program Pendidikan Magister.

Penulis menyadari bahwa tesis ini masih jauh dari kesempurnaan oleh karena itu dengan segala kerendahan hati penulis mengharapkan saran dan koreksi dari semua pihak. Penulis juga menyadari bahwa tesis ini dapat diselesaikan berkat bantuan dan partisipasi berbagai pihak. Penulis menghaturkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada dr. Ulung Bahrin, SpPK(K), PhD selaku Ketua Komisi Penasihat/Pembimbing Utama dan dr. Ruland DN Pakasi, SpPK(K) selaku Anggota Penasihat/Sekretaris Pembimbing, atas segala waktu, tenaga dan pikiran dalam memberi bimbingan dalam melakukan penelitian sampai dengan selesainya tesis ini.

Pada kesempatan ini pula, penulis menyampaikan terima kasih dan penghargaan setinggi-tingginya kepada:

1. Guru Besar di Bagian Ilmu Patologi Klinik dan Guru Besar Emeritus FK UNHAS, Prof. dr. Hardjoeno, SpPK(K), Ketua Bagian Ilmu Patologi Klinik FK UNHAS dr. Mansyur Arif, PhD, SpPK(K), Ketua Program

Studi Ilmu Patologi Klinik FK UNHAS dr. Ulung Bahrun, SpPK(K), PhD, beserta seluruh Supervisor di Bagian Ilmu Patologi Klinik FK UNHAS yang senantiasa memberikan arahan, bimbingan dan saran selama menjalani pendidikan hingga penyusunan tesis ini.

2. Dosen-dosen penguji: dr. William Hamdani, SpB(K)Onk dan dr. Fitriani Mangarengi, SpPK(K) atas kesediaan waktu dan saran-sarannya dalam penyempurnaan tesis ini.
3. Pembimbing Metodologi: Prof. Dr. dr. R. Satriono, M.Sc., SpA(K), Sp.GK, yang telah membimbing dalam bidang Metode Penelitian dan Statistik selama penyusunan tesis ini.
4. Direktur RSUP dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk menjalani pendidikan di rumah sakit ini.
5. Direktur RS Ibnu Sina Makassar beserta staf yang telah memberikan izin dan membantu dalam pengumpulan sampel.
6. Direktur RS Labuang Baji Makassar beserta staf yang telah memberikan izin dan membantu dalam pengumpulan sampel.
7. Kepala Instalasi laboratorium Patologi Klinik RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar, RS Ibnu Sina Makassar, RS Labuang Baji Makassar beserta staf yang telah membantu selama masa pendidikan dan penyelesaian tesis ini.

8. Pemerintah Kabupaten Kolaka dan Kepala Dinas Kesehatan Kabupaten Kolaka yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk melanjutkan pendidikan.
9. Seluruh teman sejawat PPDS Bagian Patologi Klinik, teman berbagi suka dan duka selama masa pendidikan, yang telah memberikan bantuan, motivasi dan dukungan selama masa pendidikan dan penyelesaian tesis ini.
10. Penderita *carcinoma mammae* yang dengan sukarela berpartisipasi dalam penelitian ini.
11. Seluruh pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah memberikan bantuan moril maupun materil secara langsung maupun tidak langsung.

Akhirnya penulis menghaturkan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada kedua orang tua tercinta, Ayahanda Alm H. Abdillah dan Ibunda Hj. Sompia, serta kedua mertua saya Alm. H. Nurdin dan Alm. Hj. Siti Hajar atas doa tulus, kasih sayang dan dukungan selama ini. Terima kasih kepada saudara-saudara saya Hj. Besse Nuralam, Dra. Besse Nurhayati, Drs. Baso Anwar, Baso Muh. Toariq dan Baso Wahyuddin, S.Pi., serta seluruh keluarga besar atas doa yang tulus, dukungan, kasih sayang serta bantuan moril maupun materil sehingga penulis dapat menyelesaikan setiap tahap proses pendidikan ini.

Khusus kepada suami tercinta, Ir. Sarmahuddin Nushar dan ananda tersayang B. Syaroful Haq dan Syafiq Dyaulhaq dengan penuh keharuan

dan kebanggaan penulis sampaikan terima kasih atas segala cinta, kasih sayang, pengorbanan, pengertian, dukungan semangat dan doa tulus yang selama ini mengiringi perjalanan panjang penulis dalam mengikuti pendidikan.

Melalui kesempatan ini pula, penulis menghaturkan permohonan maaf yang setulus-tulusnya atas segala kekhilafan dan kesalahan yang telah dilakukan baik sengaja maupun tidak disengaja selama masa pendidikan.

Penulis berharap agar tesis ini dapat bermanfaat bagi masyarakat dan bagi perkembangan Ilmu Patologi Klinik. Semoga Allah SWT senantiasa menyertai dan memberkati setiap langkah pengabdian kita. Amin.

Makassar, Juli 2012

Besse Rosmiati

ABSTRAK

BESSE ROSMIATI. Analisis kadar *matrix metalloproteinase-2* (MMP-2) pada penderita *carcinoma mammae* (dibimbing oleh Uleng Bahrin dan Ruland DN Pakasi).

Matrix Metalloproteinase-2 adalah famili enzim proteinase yang dapat mendegradasi komponen *extracellular matrix*. Hasil penelitian mengenai peran MMP-2 pada progresi dan metastasis *carcinoma mammae* masih kontroversial. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis kadar MMP-2 pada penderita *carcinoma mammae* metastasis dan non metastasis.

Penelitian ini dilakukan di RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo, RS Ibnu Sina, RS Labuang Baji Makassar untuk pengambilan sampel. Metode penelitian bersifat *cross sectional*, dilakukan selama bulan April 2012 - Juni 2012. Total sampel 56 subyek, berumur 31-68 tahun. Subyek dibagi menjadi dua kelompok yaitu metastasis dan non metastasis berdasarkan hasil pemeriksaan foto thoraks, ultrasonografi dan atau *bone scan*. Subyek juga dikelompokkan menjadi stadium dini dan lanjut berdasarkan TNM. Kadar MMP-2 serum diukur dengan metode *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) menggunakan kit MMP-2 Quantikine (R&D System, Minneapolis).

Hasil penelitian menunjukkan rerata kadar MMP-2 pada *carcinoma mammae* metastasis dan non metastasis adalah masing-masing 20,18 ng/mL dan 17,14 ng/mL. *Independent sample T test* menunjukkan adanya perbedaan bermakna kadar MMP-2 antara *carcinoma mammae* metastasis dan non metastasis ($p=0,018$). Rerata kadar MMP-2 pada stadium dini dan lanjut adalah masing-masing 17,10 ng/mL dan 18,31 ng/mL, *Independent sample T test* menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna antara kedua stadium tersebut. *One way anova test* menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna kadar MMP-2 berdasarkan ukuran tumor dan infiltrasi ke kelenjar limfe regional menunjukkan bahwa MMP-2 lebih berperan pada metastasis dibandingkan pada pertumbuhan tumor primer. Kadar MMP-2 lebih tinggi pada *carcinoma mammae* metastasis dibandingkan dengan non metastasis sehingga dapat digunakan sebagai biomarker untuk memprediksi metastasis *carcinoma mammae*.

Kata kunci: *Matrix Metalloproteinase-2*, *carcinoma mammae*, metastasis, TNM

ABSTRACT

BESSE ROSMIATI. Analysis of Matrix Metalloproteinase-2 (MMP-2) level in breast cancer patients. (Supervised by Uleng Bahrun and Ruland DN Pakasi).

Matrix Metalloproteinase-2 is a family of extracellular matrix degrading proteinases. The study results of role MMP-2 in breast cancer progression and metastasis are still controversial. The study was aimed to analyze MMP-2 level in metastatic and non metastatic breast cancer patients.

A cross sectional study was performed during the period of April 2012 to Juni 2012 at dr. Wahidin Sudirohusodo, Ibnu Sina, Labuang Baji Hospitals for samples collection. Total samples were 56 subjects, ranging from 31-68 years old. Subjects divided into metastatic and non metastatic group based on the thorax photo, ultrasonography and/or bone scan results, and divided into early and advanced stage based on the TNM staging. Matrix metalloproteinase-2 level was determined by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) method using MMP-2 Quantikine kit (R&D Systems, Minneapolis).

Study results showed the mean of MMP-2 level in metastatic and non metastatic breast cancer were 20.18 ng/mL and 17,14 ng/mL, respectively. Independent sample T test showed there was significant difference ($p=0,018$) of MMP-2 level between metastatic and non metastatic breast cancer. The mean of MMP-2 level in early and advanced stages were 17,10 ng/mL and 18,31 ng/ml, respectively, independent sample T test showed no significant difference of MMP-2 level between both stages. One way anova test showed no significant difference of MMP-2 level based on tumor size and regional lymph node infiltration. The role of MMP-2 is prominent in metastasis than growth of primary tumor. Matrix Metalloproteinase-2 level in metastatic is higher than non metastatic breast cancer so it can be used as a biomarker to predict breast cancer metastatic.

Key words: Matrix Metalloproteinase-2, breast cancer, metastasis, TNM

DAFTAR ISI

	Halaman
PRAKATA	ii
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR SINGKATAN	xiii
I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	5
C. Tujuan Penelitian	6
D. Hipotesis	6
E. Manfaat Penelitian	6
II. TINJAUAN PUSTAKA	
A. Carcinoma Mammae	8
B. Matrix Metalloproteinase	31
III. KERANGKA PENELITIAN	
A. Kerangka Teori	39
B. Kerangka Konsep	40

IV. METODE PENELITIAN	
A. Desain penelitian	41
B. Tempat dan Waktu Penelitian	41
C. Populasi Penelitian	41
D. Sampel dan Cara Pemilihan Sampel	42
E. Perkiraan Besar Sampel	42
F. Kriteria Inklusi dan Eksklusi	43
G. Izin Penelitian dan Kelaikan Etik	43
H. Cara kerja	43
I. Alur penelitian	47
J. Definisi Operasional dan Kriteria Obyektif	48
K. Metode Analisis	49
V. HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. Hasil Penelitian	50
B. Pembahasan	54
VI. KESIMPULAN DAN SARAN	
A. Simpulan	60
B. Saran	60
DAFTAR PUSTAKA	61
LAMPIRAN	67

DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
1. Klasifikasi <i>Carcinoma Mammae</i> berdasarkan Kriteria WHO	28
2. Stadium <i>Carcinoma Mammae</i> berdasarkan TNM dari AJCC tahun 2002	29
3. Klasifikasi Stadium Klinis berdasarkan Klasifikasi TNM <i>Carcinoma Mammae</i>	30
4. Karakteristik Subyek Penelitian	51
5. Kadar MMP-2 berdasarkan ukuran tumor dan infiltrasi ke kelenjar limfe regional	54

DAFTAR GAMBAR

Nomor		
Halaman		
1.	Proses Angiogenesis	17
2.	Tahap-tahap metastasis tumor	21
3.	Peranan MMP pada kanker	32
4.	Peranan MMP-2 pada metastasis tumor	36
5.	Perbandingan kadar MMP-2 pada <i>carcinoma mammae</i> metastasis dan non metastasis	52
6.	Perbandingan kadar MMP-2 pada <i>carcinoma mammae</i> stadium dini dan stadium lanjut	53

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
1. <i>Ethical Clearance</i>	67
2. Surat Persetujuan	68
3. Data Dasar Penelitian	69
4. <i>Curriculum Vitae</i>	71

DAFTAR SINGKATAN

Singkatan / Lambang	Arti dan Keterangan
AJCC	<i>The American Joint Committee on Cancer</i>
ASCO	<i>The American Society of Clinical Oncology</i>
BRCA1	<i>Breast Cancer Associated Gene 1</i>
BRCA 2	<i>Breast Cancer Associated Gene 2</i>
CA 15-3	<i>Cancer Antigen 15-3</i>
CA 27.29	<i>Cancer Antigen 27.29</i>
CEA	<i>Carcinoembryonic Antigen</i>
CSF-1	<i>Colony-Stimulating Factor-1</i>
CT Scan	<i>Computed Tomography Scan</i>
DNA	<i>Deoxyribo Nucleic Acid</i>
EC	<i>Endothelial Cell</i>
ECM	<i>Extracellular Matrix</i>
ELISA	<i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i>
EMMPRIN	<i>Extracellular Matrix Metalloproteinase Inducer</i>
FGF	<i>Fibroblast Growth Factor</i>
FGFR	<i>Fibroblast Growth Factor Receptor</i>
HER-2	<i>Human Epidermal Growth Factor Receptor-2</i>
IGF	<i>Insulin Like Growth Factor</i>

M-CSF	<i>Macrophage-Colony Stimulating Factor</i>
MMP	<i>Matrix Metalloproteinase</i>
MMP-2	<i>Matrix Metalloproteinase-2</i>
MRI	<i>Magnetic Resonance Imaging</i>
MUC 1	<i>Mucinous Antigen 1</i>
PDGF	<i>Platelet Derived Growth Factor</i>
SGOT	<i>Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase</i>
SGPT	<i>Serum Glutamic Pyruvic Transaminase</i>
TGF- α	<i>Transforming Growth Factor α</i>
TGF- β	<i>Transforming Growth Factor β</i>
TIMP's	<i>Tissue Inhibitors of Metalloproteinase</i>
TNM	<i>Tumor size, Node, Metastasis</i>
TNF- α	<i>Tumor Necrosis Factor α</i>
TPA	<i>Tissue Polypeptide Antigen</i>
TPS	<i>Tissue Polypeptide Specific Antigen</i>
VEGF	<i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
WHO	<i>World Health Organization</i>

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Carcinoma mammae adalah penyakit neoplasma ganas yang berasal dari parenkim payudara. Penyebab *carcinoma mammae* sampai saat ini belum diketahui secara pasti, tetapi bersifat multifaktorial, yaitu banyak faktor yang terkait satu dengan yang lain. Beberapa faktor yang diperkirakan mempunyai pengaruh besar dalam terjadinya *carcinoma mammae* adalah riwayat keluarga, hormonal dan faktor lain yang bersifat eksogen. (Tjindarbumi, 2000)

Carcinoma mammae merupakan salah satu penyebab kematian pada perempuan dan lebih dari satu juta kasus ditemukan di berbagai belahan dunia. *World Health Organisation* (WHO) melaporkan hampir 460.000 perempuan meninggal karena *carcinoma mammae* pada tahun 2008. (WHO, 2011) Diperkirakan 1,38 juta perempuan didiagnosis menderita *carcinoma mammae* yang merupakan sepersepuluh (10,9%) dari semua kasus kanker baru dan hampir seperempat (23%) dari semua kasus kanker pada perempuan di seluruh dunia, serta 14% dari total kematian akibat kanker pada tahun 2008. (Jemal et al., 2011) Setiap tahun ditemukan sekitar 182.460 kasus baru di Amerika Serikat dan 332.670 kasus baru *carcinoma mammae* terjadi di negara-negara Uni

Eropa. (Cancer Research UK, 2009) *Carcinoma mammae* merupakan kanker terbanyak kedua pada perempuan setelah *carcinoma cervix* di Indonesia dan lebih dari 50% penderita *carcinoma mammae* ditemukan pada stadium lanjut. (Kurnia et al., 2008) Berdasarkan data dari *Global Burden of Cancer*, pada tahun 2009 diperkirakan sekitar 30.581 kasus *carcinoma mammae* baru di Indonesia. (Economist Intelligence Unit, 2009)

Metastasis merupakan penyebab utama peningkatan angka kematian dan kesakitan pada *carcinoma mammae*. Kemampuan metastasis ini disebabkan oleh kemampuan sel kanker untuk melakukan invasi ke jaringan sekitarnya dan seterusnya ke pembuluh darah atau pembuluh limfe. *Carcinoma mammae* bermetastasis pertama kali ke kelenjar limfe aksilla regional. Lokasi metastasis jauh yang paling sering adalah tulang, hati, paru, pleura dan otak. Sangat penting untuk mendeteksi dini adanya metastasis pada *carcinoma mammae* untuk memastikan penderita mendapatkan terapi yang tepat. (Subarkah, 2008) Deteksi adanya metastasis dapat dilakukan dengan pemeriksaan foto toraks, *bonescan*, ultrasonografi (USG), *Computed Tomography Scan* (CT Scan), *Magnetic Resonance Imaging* (MRI), namun sebagian besar teknik pemeriksaan tersebut memerlukan biaya yang mahal, membutuhkan keterampilan khusus dan hanya tersedia di pusat pelayanan kesehatan tertentu, sehingga biomarker baru dengan pemeriksaan yang mudah dilakukan, misalnya dengan tes darah yang non invasif dan mudah diakses untuk

melengkapi tes penyaring yang ada perlu dikembangkan. (Somari et al., 2006)

Matrix Metalloproteinase (MMP) merupakan famili enzim proteinase yang mampu menghidrolisis komponen-komponen *extracellular matrix* (ECM) seperti elastin, proteoglikan dan kolagen. Proteinase tersebut berperan penting dalam banyak proses biologik seperti pembentukan embrio, *remodelling* jaringan normal, penyembuhan luka dan angiogenesis. (Whatling et al., 2004; Szmítko et al., 2003)

Invasi dan metastasis sel tumor tergantung pada ECM dan perjalanan sel tumor melalui komponen-komponennya. Sel tumor harus menembus komponen membran basalis dan menghapus batas-batas jaringan ECM untuk menginvasi sel target. (Nagase and Woessner, 1999) *Matrix metalloproteinase* mempunyai peran penting pada progresi metastasis berdasarkan kemampuannya menstimulasi pertumbuhan sel tumor dan memfasilitasi penghancuran ECM dan membran basalis. Bukti ini mengindikasikan bahwa aktivasi MMP berhubungan dengan produksi dan pelepasan *growth factor* dan faktor kemotaktik yang mendukung pertumbuhan dan metastasis tumor. Salah satu famili MMP yaitu *Matrix metalloproteinase-2* (MMP-2) merupakan gelatinase yang diketahui berperan pada berbagai proses keganasan. (Kargozaran et al., 2007) *Matrix Metalloproteinase 2* dapat mendegradasi komponen utama dari membran basalis yaitu gelatin dan kolagen tipe IV yang merupakan barier utama terhadap invasi dan ekstrasvasasi tumor. (Somari et al., 2006)

Penelitian terbaru memperlihatkan bahwa inhibisi aktivitas MMP-2 mengurangi metastasis sel-sel malignan dan *downregulation* MMP-2 menyebabkan penurunan invasi sel tumor. Penelitian pada binatang didapatkan bahwa inhibisi MMP-2 menurunkan metastasis ke tulang dan paru. (Kargozaran et al., 2007)

Konsentrasi dan aktivitas MMP-2 berbeda pada tumor payudara yang jinak dan ganas, sehingga mendukung bahwa kadar MMP-2 dapat digunakan untuk memonitor atau memprediksi progresi dari *carcinoma mammae*. *Matrix metalloproteinase-2* di sirkulasi pada *carcinoma mammae* mempunyai peranan sebagai biomarker untuk klasifikasi *carcinoma mammae*. (Somari et al., 2006) Ekspresi MMP-2 meningkat pada tumor primer dan berhubungan dengan agresifitas penyakit dan *outcome* yang buruk. *Matrix metalloproteinase 2* juga dapat dideteksi pada serum penderita *carcinoma mammae* yang dapat diukur dengan metode *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA). (Leppa et al., 2004) Penelitian Leppa et.al. mendapatkan median kadar MMP-2 pada serum penderita *carcinoma mammae* yaitu 5,25 ng/mL yang digunakan sebagai *cut off* antara kadar yang rendah dan tinggi, menunjukkan bahwa kadar MMP-2 serum merupakan faktor prognostik independen yang bermakna pada penderita *carcinoma mammae*. (Leppa et al., 2004) Penelitian Liu et al. mendapatkan bahwa kadar MMP-2 lebih tinggi pada penderita *carcinoma mammae* dengan metastasis, (Liu et al., 2006) sedangkan penelitian Incorvaia et al. mendapatkan bahwa tidak terdapat perbedaan

bermakna antara penderita *carcinoma mammae* metastasis dan non metastasis. (Incorvaia et al., 2007) Penelitian Chen et al. mendapatkan bahwa kadar MMP-2 serum lebih tinggi pada penderita *carcinoma mammae* stadium lanjut. (Chen et al., 2001)

Hasil penelitian mengenai peran MMP-2 pada progresi dan metastasis *carcinoma mammae* masih kontroversial dan penelitian mengenai kadar MMP-2 pada *carcinoma mammae* di Indonesia khususnya di Makassar sepanjang pengetahuan peneliti belum pernah dilakukan sehingga peneliti tertarik untuk melakukan penelitian mengenai analisis kadar MMP-2 pada penderita *carcinoma mammae* dengan metastasis dan non metastasis.

B. Rumusan masalah

Berdasarkan uraian pada latar belakang masalah, dapat dirumuskan pertanyaan penelitian sebagai berikut:

Bagaimana kadar MMP-2 serum pada penderita *carsinoma mammae* metastasis dan non metastasis?

C. Tujuan penelitian

C.1. Tujuan Umum

Menganalisis kadar MMP-2 serum pada penderita *carsinoma mammae* metastasis dan non metastasis.

C.2. Tujuan Khusus

- a. Diukurnya kadar MMP-2 serum dengan metode ELISA pada penderita *carcinoma mammae* metastasis dan non metastasis.
- b. Dibandingkannya kadar MMP-2 serum pada *carcinoma mammae* metastasis dengan *carcinoma mammae* non metastasis.
- c. Diukurnya kadar MMP-2 serum dengan metode ELISA pada penderita *carcinoma mammae* stadium dini dan stadium lanjut.
- d. Dibandingkannya kadar MMP-2 serum pada penderita *carcinoma mammae* stadium dini dan stadium lanjut.

D. Hipotesis

Kadar MMP-2 serum lebih tinggi pada penderita *carcinoma mammae* metastasis dibanding non metastasis.

E. Manfaat Penelitian

1. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai kadar MMP-2 pada penderita *carcinoma mammae* metastasis dan non metastasis.
2. Bila hipotesis penelitian ini terbukti, maka MMP-2 diharapkan dapat membantu dalam menentukan prognosis penderita *carcinoma mammae*.

3. Diharapkan dapat menambah khazanah ilmu pengetahuan untuk penelitian *carcinoma mammae* selanjutnya.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Carcinoma Mammae

Carcinoma mammae adalah suatu penyakit neoplasma ganas yang berasal dari parenkim payudara, mengakibatkan sel kehilangan pengendalian dari mekanisme normalnya sehingga mengalami pertumbuhan tidak normal dan cepat. (Corwin, 2001) Kanker dapat mulai tumbuh di dalam kelenjar susu, saluran susu, jaringan lemak maupun jaringan ikat pada payudara. Sel kanker jika tidak dibuang atau tidak terkontrol dapat bermetastasis pada bagian-bagian tubuh lain. Proses awal metastasis dapat terjadi pada kelenjar getah bening (limfe) aksilla ataupun di supraklavikula, hati, kulit dan bawah kulit. Selain itu sel-sel kanker dapat bermetastasis di tulang dan paru-paru. (Subarkah, 2008)

1. Anatomi dan Fisiologi Payudara

Payudara terletak pada hemitoraks kanan dan kiri dengan batas-batas sebagai berikut:

- a. Batas-batas payudara yang tampak dari luar: batas superior adalah iga II atau III, batas inferior adalah iga VI atau VII, batas medial adalah pinggir sternum dan batas lateral adalah garis aksillaris anterior.

- b. Batas-batas payudara yang sesungguhnya: batas superior adalah hampir sampai ke klavikula, batas medial adalah *midline*, batas lateral adalah m. latissimus dorsi.

Jaringan payudara dibentuk oleh glandula yang memproduksi air susu yang dialirkan ke puting melalui duktus. Struktur lainnya adalah jaringan lemak yang merupakan komponen terbesar, jaringan konektif, pembuluh darah dan saluran beserta kelenjar limfatik. Setiap payudara mengandung 15-20 lobus yang tersusun sirkuler. (Feight et al., 2006) Jaringan lemak (*subcutaneous adipose tissue*) yang membungkus lobus bentuk dan ukuran payudara. Setiap lobus dipisahkan oleh stroma interlobar dan masing-masing mempunyai duktus laktiferus yang bermuara secara independen pada permukaan puting susu. Diantara lobulus terdapat ligamentum Cooper yang memberi rangka untuk payudara. Setiap lobulus terdiri dari sel-sel asini yang terdiri dari sel epitel kubus dan mioepitel yang mengelilingi lumen. Sel epitel mengarah ke lumen, sedangkan sel mioepitel terletak diantara sel epitel dan membran basalis. (Eroschenko, 2003; Schwartz , 2000)

Payudara mendapat aliran darah dari cabang-cabang perforantes

- a. *mammaria interna* yang memberi vaskularisasi pada tepi medial glandula mamma, rami pektoralis a. thorako akromialis yang merupakan pembuluh utama m. pektoralis mayor dan mengalirkan darah pada glandula mamma bagian dalam, a. thorakalis lateralis (a. *mammaria*

eksterna) akan mengalir bagian lateral payudara, a. thoraco dorsalis mengalir m. latissimus dorsi. (Jatoi et al., 2006)

Pembuluh limfatik dan kelenjar limfe dari glandula mamma sangat penting. Pembuluh limfatik berjalan di tepi lateral m. pectoralis mayor dan bersatu dengan kelenjar limfe pectoral yang mengiringi pembuluh darah torakalis lateralis. Kelenjar limfe menyebar ke m. serratus anterior dari sini aliran limfatik kemudian ke kelenjar limfe aksilla (mesenterica dan interpectoral). Jalur drainase limfatik melalui pectoralis mayor dekat garis parasternal dan melalui *intercostals space* menuju kelenjar limfe parasternal yang terletak sepanjang pembuluh darah mamma interna. Drainase limfatik dapat juga menuju kelenjar limfe supraklavikula melalui kelenjar limfe mesenterica superior dan infraklavikula. (Scottish Intercollegiate Guidelines Network, 2005) Jalur drainase intramuscular yang melewati pectoralis mayor langsung ke kelenjar limfe termasuk juga kelenjar limfe interpectoral yang terletak diantara dua otot dada yang mengalirkan ke *deep axillary lymph node* atau langsung ke *apical axillary lymph node*. (Subarkah, 2008)

2. Faktor Risiko

Beberapa faktor risiko berperan penting pada timbulnya *carcinoma mammae*, antara lain:

a. Umur

Umur merupakan faktor risiko yang juga penting untuk terjadinya *carcinoma mammae* yang apabila distandarisasi pada seluruh ras baik kulit putih, hitam, asia, polinesia, hispanik dan lain-lain maka dapat terlihat peningkatan *carcinoma mammae* sesuai umur. (Spicer and Pike, 2005) Terjadi peningkatan risiko untuk *carcinoma mammae* dari 1:15.300 pada usia dekade ketiga menjadi 1: 22 pada usia dekade kelima dan 1:10 pada usia dekade ke delapan. (Cancer Research UK, 2009; ACS, 2010)

b. Jenis Kelamin

Insiden *carcinoma mammae* pada perempuan dibanding pria lebih dari 100:1. Secara umum satu dari sembilan perempuan Amerika akan menderita *carcinoma mammae* sepanjang hidupnya. (Dixon, 2005) Banyaknya kejadian *carcinoma mammae* pada perempuan kemungkinan dipengaruhi oleh hormon-hormon perempuan yaitu estrogen dan progesteron yang berpengaruh terhadap proliferasi sel-sel kelenjar mammae yang secara fisiologis jauh lebih berkembang dibandingkan pada pria yang bersifat rudimenter. (ACS, 2010; Cancer Research UK, 2009; Jordan, 2003)

c. Ras

Carcinoma mammae lebih banyak ditemukan pada perempuan kulit hitam jika dibandingkan dengan perempuan kulit putih serta berusia lebih dari 40 tahun. Pada perempuan kulit hitam yang menderita

carcinoma mammae umumnya dengan *nuclear high-grade*, lebih sering tanpa reseptor hormonal dan terjadinya mutasi sporadik p53. (Carey et al., 2006)

d. Hormonal

Pengaruh hormon estrogen dalam jangka waktu lama dengan konsentrasi tinggi dapat mengakibatkan risiko terjadinya *carcinoma mammae*. Hal ini dapat terjadi apabila pada usia muda telah terpapar hormon estrogen atau pada keadaan sel-sel jaringan kelenjar mammae belum mengalami diferensiasi penuh misalnya pada saat hamil dan laktasi. Kontrasepsi oral yang pemakaiannya lebih dari 10 tahun pada beberapa penelitian dilaporkan dapat meningkatkan risiko *carcinoma mammae*. (Hayes, 2000; Balnd et al., 2005)

e. Faktor Genetik

Adanya riwayat dalam keluarga dapat meningkatkan risiko terjadi *carcinoma mammae* yang kemungkinan untuk menderita dua sampai tiga kali lebih besar pada perempuan yang ibu atau saudara kandungnya menderita *carcinoma mammae* dengan jenis bilateral atau premenopause, (Spicers and Pike, 2005) dan kaitannya dengan penemuan beberapa gen dalam terjadinya *carcinoma mammae* yaitu *Breast Cancer Associated gene 1* (BRCA1), *Breast Cancer Associated gene 2* (BRCA2), p53 dan gen-gen lainnya. (Hayes, 2000)

f. Faktor radiasi

Perempuan yang memiliki riwayat terpapar radiasi dosis tinggi khususnya selama masa remaja terdapat peningkatan risiko terkena *carcinoma mammae*. Risiko terjadinya *carcinoma mammae* akibat terpapar radiasi dipengaruhi oleh dosis yang diterima, umur pada saat terkena paparan radiasi, lamanya paparan dan faktor genetik. (Valentina, 2007)

g. Pola hidup

Beberapa pola hidup seperti diet tinggi kalori, diet tinggi lemak, konsumsi alkohol dan kebiasaan merokok serta obesitas pada menopause dapat meningkatkan risiko terjadinya *carcinoma mammae*. Faktor diet merupakan penyebab paling sering yaitu sekitar 40% penyebab pada pria dan 60% pada perempuan. (Spicer and Pike, 2005)

3. Etiologi dan Patogenesis

Etiologi *carcinoma mammae* belum diketahui dengan pasti, namun beberapa faktor yang mempunyai peranan penting yaitu perubahan genetik, pengaruh hormon dan faktor lingkungan. (Crum et al., 2007) Dua gen yang bertanggung jawab pada dua pertiga kasus *carcinoma mammae* familial atau 5% secara keseluruhan yaitu gen BRCA1 yang berlokasi pada kromosom 17 (17q21) dan gen BRCA2 yang berlokasi pada kromosom 13 (13q12-13). (Heffnerr and Schust, 2003; Valentina,

2007) Perempuan yang telah menerima satu gen BRCA1 atau BRCA2 yang rusak dari satu orang tua dan satu gen dari orang tua lainnya disebut *carrier* dari gen BRCA yang rusak. Satu gen BRCA1 atau BRCA2 yang sehat yang tersisa diperlukan untuk membantu mencegah pertumbuhan sel abnormal, tetapi gen BRCA1 yang sehat ternyata sangat mudah mengalami kerusakan akibat faktor-faktor lingkungan. Perempuan yang memiliki gen BRCA1 atau BRCA 2 yang rusak mempunyai risiko untuk terkena *carcinoma mammae* dan cenderung mengembangkan keganasan di awal hidupnya. (Casciato and Barry, 2004)

Mutasi genetik lainnya yang dihubungkan dengan kejadian *carcinoma mammae* adalah gen p53 yang merupakan gen supressor. Gen ini merupakan regulator transkripsi, penstabil genom, berpartisipasi pada perbaikan DNA, inhibitor progresi siklus sel dan fasilitator apoptosis pada sel yang rusak. (Heffner and Schust, 2003; Valentina, 2007)

Unsur lain seperti asam lemak tertentu dan hormon estrogen endogen yang berlebihan dapat meningkatkan risiko *carcinoma mammae* yang kemungkinan melalui reseptornya berinteraksi dengan promotor pertumbuhan dalam hal ini adalah *platelet-derived growth factor* (PDGF), *transforming growth factor* (TGF) dan *fibroblast growth factor* (FGF) yang diproduksi oleh sel ganas dalam menumbuhkan

mekanisme autokrin perkembangan tumor. (Crum et al., 2007; Corwin, 2000; Casciato and Barry, 2004)

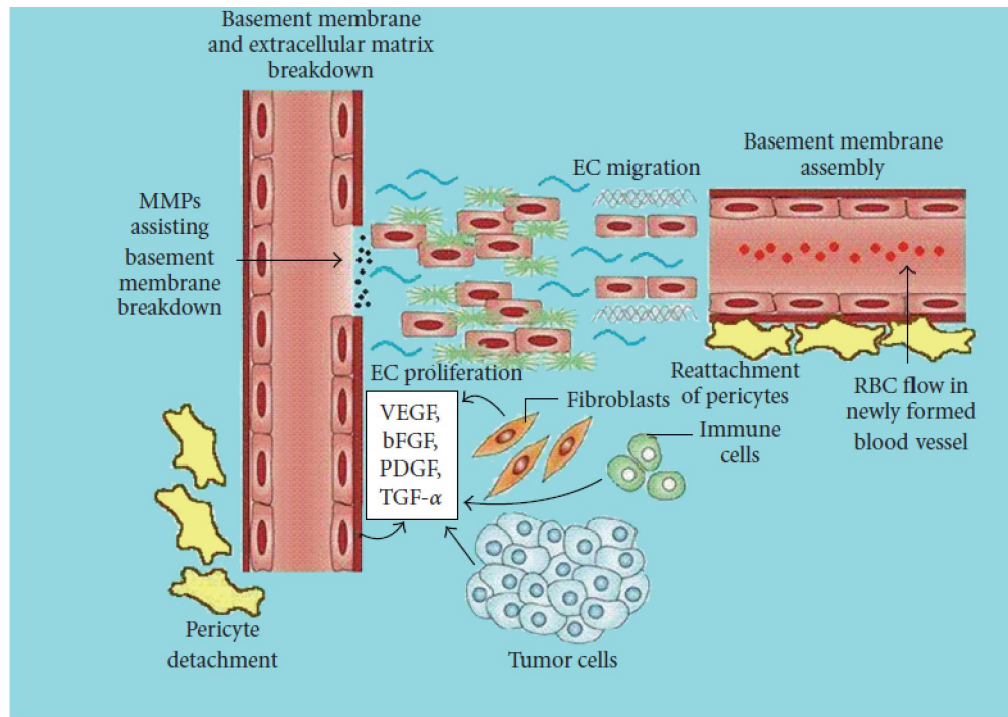
Human epidermal growth factor receptor 2 (Her-2/neu) adalah protoonkogen yang berperan pada kejadian *carcinoma mammae*. Protoonkogen ini merupakan reseptor faktor pertumbuhan dan berperan pada regulasi pertumbuhan sel. Tingginya kadar protein Her-2 pada *carcinoma mammae* merupakan penanda prognosis yang buruk. (Swain, 2006; Valentina, 2007)

Angiogenesis dan Metastasis

Kemampuan tumor untuk menginduksi pembentukan pembuluh darah baru (*angiogenesis*) pada pejamu berpengaruh pada pertumbuhan tumor dan metastasis. Aktivitas *angiogenesis* mengakibatkan ekspansi pertumbuhan tumor dan meningkatkan risiko metastasis. *Angiogenesis* adalah proses pembentukan pembuluh darah baru dari sel-sel endotel yang dilepaskan dari pembuluh darah yang telah ada sebelumnya. (Kresno, 2011)

Angiogenesis berlangsung melalui suatu proses yang berurutan (Gambar 1), yaitu: 1) Jaringan yang rusak memproduksi dan melepaskan faktor pertumbuhan seperti *vascular endothelial growth factor* (VEGF) dan PDGF yang berdifusi ke jaringan sekitarnya. 2) Faktor pertumbuhan angiogenik berikatan dengan reseptor spesifik yang terdapat pada sel endotel pembuluh darah terdekat. 3) Setelah

faktor pertumbuhan berikatan dengan reseptornya sel endotel menjadi aktif, sinyal pertumbuhan diteruskan dari permukaan sel ke nukleus. Sel-sel endotel mulai membentuk molekul-molekul baru termasuk berbagai enzim. 4) Enzim melarutkan protein dan membentuk lubang-lubang kecil pada membran basal, ketiadaan perisit berakibat membran basal endotel dan ECM mengalami degradasi yang dibantu oleh MMP. 5) Sel endotel mulai berproliferasi dan bermigrasi melalui lubang tersebut menuju jaringan yang rusak dengan bantuan faktor pertumbuhan. 6) Molekul adhesi atau integrin berfungsi sebagai kait untuk membantu pembuluh darah yang baru dibentuk supaya berkembang. 7) *Matrix metalloproteinase* diproduksi untuk menghancurkan jaringan di depan ujung pembuluh darah baru yang sedang tumbuh. 8) Sel endotel yang baru menggulung untuk membentuk pipa pembuluh darah. 9) Setiap pembuluh darah berhubungan satu dengan lain supaya darah dapat bersirkulasi. 10) Pembuluh darah baru mengalami stabilisasi dengan bantuan sel otot yang menunjang struktur pembuluh. (Kresno, 2011; Nussenbaum and Herman, 2010)



Gambar 1. Proses angiogenesis (Nussenbaum and Herman, 2010)

Proses angiogenesis dimulai dengan degradasi ECM dan membran basalis yang dibantu oleh MMP, diikuti oleh proliferasi dan migrasi sel endotel dan akhirnya terbentuk pembuluh darah baru. Keterangan: MMP: Matrix metalloproteinase, EC: Endothelial cell, VEGF: Vascular endothelial growth factor, bFGF: Basic fibroblast growth factor, PDGF: Platelet derived growth factor, TGF- α : Transforming growth factor α , RBC: Red Blood Cell.

Metastasis adalah kemampuan sel untuk meninggalkan tumor primer, masuk dalam sirkulasi menuju jaringan di tempat jauh dan membentuk tumor sekunder. Sel harus mampu beradaptasi dengan lingkungan mikro jaringan dalam organ sasaran untuk dapat membentuk tumor sekunder. Sel kanker yang bemetastasis memerlukan sifat-sifat yang sesuai untuk adaptasi terhadap lingkungan mikro yang asing baginya dan ada kondisi yang kondusif untuk pertumbuhan dan kehidupan sel kanker selanjutnya. Stroma jaringan

pejamu juga merupakan hal penting untuk mempromosikan pertumbuhan sel kanker. (Kersten, 2011; Kresno, 2011)

Proses metastasis terdiri atas beberapa tahap yang semuanya dibutuhkan untuk terbentuknya suatu tumor metastasis yaitu sebagai berikut (Gambar 2) :

a. Invasi dan migrasi

Jaringan manusia tersusun menjadi serangkaian kompartemen yang dipisahkan satu sama lain oleh dua jenis ECM yaitu membran basalis dan jaringan ikat interstisium. Setiap komponen ECM terdiri dari kolagen, laminin dan fibronektin. Sel tumor harus berinteraksi dengan ECM di beberapa tahapan dalam jenjang metastasis. Selama migrasi, sel tumor mula-mula harus melewati membran basal di bawahnya kemudian berjalan melintasi jaringan ikat interstisium dan akhirnya memperoleh akses ke sirkulasi dengan menembus membran basal pembuluh darah. (Kersten, 2011; Kumar et al., 2004)

Invasi ECM merupakan suatu proses aktif yang diselesaikan dalam empat langkah yaitu:

1) Terlepasnya sel tumor satu sama lain

Langkah pertama dalam jenjang metastasis adalah merenggangnya sel tumor. E-kaderin bekerja sebagai lem antar sel dan bagian E-kaderin yang berada di sitoplasma berikatan dengan β -katenin. Molekul E-kaderin yang

berdekatan mempertahankan agar sel tetap menyatu. Fungsi E-kaderin hilang hampir pada semua kanker sel epitel yang dapat diakibatkan oleh mutasi inaktivasi gen E-kaderin. (Kumar et al., 2004; Swain, 2006)

2) Melekatnya sel tumor ke komponen matriks

Melekatnya sel tumor ke berbagai protein ECM seperti laminin dan fibronektin. Sel epitel normal memiliki reseptor untuk laminin membran basal yang terpolarisasi di permukaan basalnya. Sel *carcinoma* memiliki lebih banyak reseptor yang tersebar di seluruh membran sel. Kepadatan reseptor laminin di sel *carcinoma mammae* mempunyai korelasi dengan metastasis kelenjar limfe. (Kumar et al., 2004)

3) Penguraian ECM

Degradasi lokal membran basal dan jaringan ikat interstisium merupakan langkah ketiga dalam invasi. Sel tumor mengeluarkan enzim proteolitik atau menginduksi sel pejamu (fibroblas) untuk mengeluarkan protease. Beberapa enzim penghancur matriks yang disebut metalloproteinase termasuk gelatinase, kolagenase dan stromelisin ikut berperan. Kolagenase tipe IV adalah suatu gelatinase yang memecah kolagen tipe IV epitel dan membran basal vaskuler. *Carcinoma mammae* memperlihatkan ekspresi

berlebihan enzim ini sementara kadar inhibitor metalloproteinase berkurang sehingga keseimbangan bergeser ke arah penghancuran jaringan. (Kumar et al., 2004)

4) Migrasi sel tumor

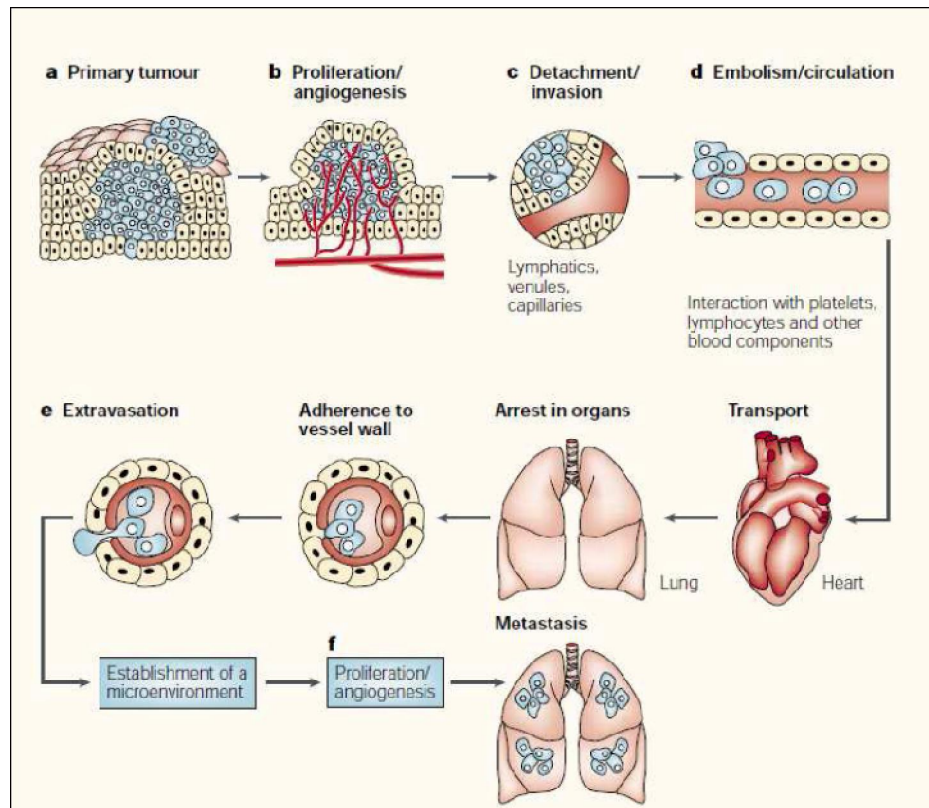
Migrasi adalah tahap akhir invasi yang mendorong sel tumor berjalan menembus barier membran basal yang telah rusak dan matriks yang telah mengalami lisis. Migrasi diperantarai oleh berbagai sitokin yang berasal dari sel tumor. (Kumar et al., 2004)

b. Intravasasi

Intravasasi adalah masuknya sel-sel kanker ke dalam sirkulasi setelah terjadi penyebaran dari tumor primer. Sel-sel tumor juga dapat masuk ke dalam sirkulasi darah melalui sistem limfatik. (Kersten, 2011) Sel kanker mensekresikan enzim proteolitik yang menyebabkan sel-sel dapat menginfiltrasi pembuluh darah setelah melekat pada sel endotel melalui molekul adhesi. (Kresno, 2011)

c. Sirkulasi

Sel kanker beredar dalam sirkulasi dan harus menghadapi berbagai kondisi yang ada dalam darah. Kondisi itu antara lain adalah konsentrasi oksigen yang tinggi dan limfosit sitotoksik. Pada kondisi ini terjadi seleksi sel-sel tumor yang resisten dan agresif. (Kersten, 2011; Kresno, 2011)



Gambar 2. Tahap-tahap metastasis tumor (Kersten, 2011)

Tumor primer mengalami proliferasi/angiogenesis, diikuti dengan invasi dan masuk ke dalam sirkulasi, kemudian terjadi ekstrasvasasi. Adanya lingkungan mikro yang mendukung, kolonisasi dan proliferasi, akhirnya terjadi metastasis.

d. Ekstrasvasasi

Ekstrasvasasi adalah tahap setelah meninggalkan sirkulasi kemudian masuk dan bertumbuh pada organ target. Sel-sel kanker terperangkap di kapiler organ tertentu, meninggalkan pembuluh darah dengan cara penetrasi endotel setelah mengeluarkan enzim proteolitik. (Kersten, 2011; Kresno, 2011)

e. Kolonisasi, Proliferasi dan Angiogenesis

Sel-sel kanker membentuk tumor sekunder di tempat baru dengan berproliferasi dan menginduksi neoangiogenesis untuk memastikan vaskularisasi yang cukup. (Kersten, 2011; Kresno, 2011)

4. Diagnosis

Penegakan diagnosis *carcinoma mammae* dilakukan dengan cara pemeriksaan klinis, radiodiagnostik, pemeriksaan laboratorium dan histopatologi. Pemeriksaan klinis meliputi anamnesis dan pemeriksaan fisis.

a. Anamnesis

Anamnesis untuk mendapatkan diagnosis yang mengarah pada *carcinoma mammae* harus mencakup wawancara terhadap keluhan di payudara atau ketiak misalnya benjolan, rasa sakit, kelainan kulit serta perubahan warna kulit, kecepatan tumbuh, benjolan pada ketiak atau pada tempat lain yang berhubungan dengan metastasis misalnya nyeri tulang, rasa penuh pada ulu hati, usia penderita, punya anak atau tidak, riwayat menyusui, riwayat menstruasi, riwayat pemakaian hormonal dan riwayat radiasi dinding dada. (National Comprehensive Cancer Network, 2008)

b. Pemeriksaan Fisis

Pemeriksaan fisis dilakukan secara sistematis baik inspeksi ataupun palpasi dan harus dilakukan pemeriksaan kelenjar payudara. Pemeriksaan fisis meliputi :

1. Massa tumor termasuk lokasi, ukuran, konsistensi, permukaan, bentuk dan batas tumor, jumlah tumor, terfiksasi atau tidak pada jaringan payudara sekitarnya.
2. Perubahan kulit yaitu adanya kemerahan, edema, nodul satelit, *peau d'orange* atau ulserasi.
3. Perubahan puting (tertarik, erosi, krusta, *discharge*)
4. Status kelenjar limfe regional
5. Pemeriksaan organ untuk mengetahui kemungkinan adanya metastasis jauh. (Desen and Japaries, 2010; Rasjidi, 2010)

c. Radiodiagnostik

1. Mammografi

Mammografi berguna dalam pemeriksaan lesi yang tidak dapat teraba, payudara kontralateral dan pemantauan payudara ipsilateral setelah pengobatan. (Davey, 2005; Schwartz, 2000)

Mammografi memiliki tingkat akurasi untuk prediksi malignansi adalah 70 – 80% tetapi untuk pasien usia muda (< 30 tahun) dengan payudara yang padat, pemeriksaan ini kurang akurat. (PERABOI, 2003)

2. Ultrasonografi

Ultrasonografi merupakan pemeriksaan yang dapat membedakan tumor kistik atau padat dan dapat mengetahui kondisi jaringan sekitarnya. Gabungan pemeriksaan USG dan mammografi memberikan ketepatan diagnostik yang lebih tinggi. (Davey, 2005)

3. *Magnetic Resonance Imaging* (MRI)

Pemeriksaan MRI sangat berguna untuk skrining pasien dengan densitas mammae yang padat dan mempunyai risiko *carcinoma mammae* tinggi dengan sensitivitas 98% tetapi spesifisitasnya rendah, biaya relatif mahal dan waktu pemeriksaan yang lama. (Martin and Newman, 2007)

d. Laboratorium

Pemeriksaan laboratorium merupakan pemeriksaan darah rutin dan pemeriksaan kimia darah sesuai dengan perkiraan adanya metastasis serta pemeriksaan penanda tumor.

1. **Alkali Fosfatase**, kadar yang meningkat menandakan adanya metastasis di hati.
2. ***Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase (SGOT)*** dan ***Serum Glutamic Pyruvic Transaminase (SGPT)***. Kadar yang meningkat dalam darah menandakan adanya metastasi di hati.
3. **Penanda tumor** (*tumor marker*), sampai saat ini belum ada penanda tumor yang spesifik untuk *carcinoma mammae*.

Penanda tumor yang paling sering dipakai adalah *Cancer Antigen 15-3* (CA 15-3) dan *Carcinoembryonic Antigen* (CEA). Penanda tumor yang jarang dipakai adalah *Cancer Antigen 27.29* (CA 27.29), *tissue polypeptide antigen* (TPA), *tissue polypeptide specific antigen* (TPS) dan HER-2. (Wulandari, 2007)

Cancer Antigen 15-3 merupakan glikoprotein dengan berat molekul 300.000 dalton dengan sensitivitas tinggi terhadap *carcinoma mammae*. Sensitivitas dan spesifisitas CA 15-3 meningkat sejalan dengan semakin lanjutnya perjalanan penyakit. Berbagai penelitian masih menunjukkan hasil yang kontroversial dalam penggunaan CA 15-3 praoperatif sebagai faktor prognostik, namun demikian ternyata pemeriksaan secara serial selama pemantauan pasca terapi memberikan informasi prognostik yang lebih baik. (Lamadjido et al., 2003; Wulandari, 2007)

Carcinoembryonic Antigen merupakan oncofetal glikoprotein dengan berat molekul 180.000 dalton yang ditemukan pada mukosa intestinal sepanjang periode embrionik dan janin. Peningkatan kadar CEA ditemukan pada sekitar 40-50% penderita kanker yang bermetastasis. Kadar CEA praoperatif yang tinggi juga dilaporkan berhubungan dengan prognosis yang buruk. (Lamadjido et al., 2003; Wulandari, 2007)

Cancer Antigen 27.29 merupakan determinan lain dari *Mucinous Antigen 1 (MUC1)*. *Mucin Antigen 1* adalah salah satu famili *mucin* yang merupakan glikoprotein yang diekspresikan oleh berbagai jaringan. Ekspresi MUC 1 seringkali meningkat dan dilepaskan dalam jumlah besar ke dalam sirkulasi pada keganasan seperti *carcinoma mammae*. Berbagai penelitian menunjukkan bahwa CA 27.29 memiliki sensitivitas yang lebih baik daripada CA 15-3 pada pasien *carcinoma mammae* primer dan lebih rendah pada subjek yang sehat. *The American Society of Clinical Oncology (ASCO)* dalam *guideline* yang diperbaharui pada tahun 2000 belum merekomendasikan pemeriksaan rutin CA 27.29 karena belum diperoleh bukti klinis yang memadai. (Wulandari, 2007)

Salah satu onkogen yang penting adalah reseptor *growth factor* yang disebut HER-2. Onkogen ini merupakan glikoprotein dengan berat molekul 185 kilodalton. Suatu penelitian menunjukkan bahwa pemutusan *extracellular domain* molekul HER-2 melibatkan aktivitas MMP dan pemutusan dihambat oleh MMP inhibitor. Metode pemeriksaan HER-2 yang paling banyak dipakai adalah immunohistokimia dan *fluorescence in situ hybridization (FISH)*. (Wulandari, 2007)

Pemeriksaan BRCA1 dan BRCA2 dianjurkan pada pasien dengan riwayat keluarga menderita *carcinoma mammae*. Tes

BRCA1/2 pada umumnya berlangsung melalui dua pendekatan yaitu sequencing lengkap semua ekson atau dengan sequencing selektif pada ekson-ekson tertentu yang diduga mengandung mutasi. (Wulandari, 2007)

e. Histopatologi

Diagnosis pasti adanya *carcinoma mammae* ditegakkan dengan pemeriksaan histopatologi. Bahan pemeriksaan dapat diambil dengan berbagai cara yaitu biopsi aspirasi (*fine needle biopsy*), *needle core biopsy* dengan jarum Silverman, biopsi eksisi dan pemeriksaan potong beku pada waktu operasi. (Scottish Intercollegiate Guidelines Network, 2005)

Deteksi adanya metastasis dapat dilakukan dengan pemeriksaan foto toraks, *bonesurvey*, USG abdomen / USG hepar dan CT Scan. CT Scan dipergunakan untuk diagnosis metastasis kanker payudara pada organ lain. (Subarkah, 2008) Foto toraks yang digunakan untuk mendeteksi metastasis ke paru-paru memiliki sensitivitas yang rendah karena hanya dapat mendeteksi massa tumor dengan diameter rata-rata <1,6 cm. (Milosevic et al., 2006) Ultrasonografi abdomen untuk mendeteksi metastasis ke hepar juga memiliki keterbatasan yaitu ketergantungan pada operator yang tinggi, ketidakmampuan untuk mendeteksi lesi < 1 cm, serta sensitivitas dan spesivitas rendah. (Sahani and Kalva, 2004) Penelitian oleh Quiaia et al. (2006) menunjukkan sensitivitas dan

spesifisitas USG dalam mendeteksi metastasis ke hati masing-masing 56,3% dan 63%. (Quaia et al., 2006)

5. Klasifikasi

a. Klasifikasi Histopatologi

Klasifikasi *carcinoma mammae* berdasarkan kriteria WHO digolongkan berdasarkan gambaran histopatologi (Tabel 1).

Tabel 1. Klasifikasi *carcinoma mammae* berdasarkan kriteria WHO

Subtipe Histologi	Insiden (%)
<i>Non Invasive Carcinoma</i>	
<i>Intraductal Carcinoma (DCIS)</i>	15
<i>Lobular Carcinoma Insitu (LCIS)</i>	2
<i>Invasive Carcinoma</i>	
<i>Infiltrating Ductal Carcinoma</i>	60
<i>Infiltrating Lobular Carcinoma</i>	5-10
<i>Mucinosus Carcinoma</i>	2-5
<i>Medullary Carcinoma</i>	1-5
<i>Tubular Carcinoma</i>	2-5
<i>Papillary Carcinoma</i>	2-5
Tipe lain	1-5

Sumber: Pronistsz et al., 2001

b. Klasifikasi Stadium

Klasifikasi *carcinoma mammae* menurut *The American Joint Committee on Cancer (AJCC)* merupakan penentuan stadium *carcinoma mammae* secara klinis yang didasarkan pada sistem TNM (*Tumor size, Node, Metastasis*) (Tabel 2).

Tabel 2. Stadium *carcinoma mammae* berdasarkan TNM dari AJCC tahun 2002

T (tumor size), ukuran tumor:
TX : Tumor primer tidak dapat dinilai
T0 : Tidak ditemukan tumor primer
Tis : Carcinoma insitu. Mencakup carcinoma in situ duktal atau lobular
T1 : Diameter tumor < 2 cm
T2 : Diameter tumor 2-5 cm
T3 : Diameter tumor > 5 cm
T4 : Ukuran tumor berapapun ekstensi langsung ke kulit atau dinding dada
N (node), kelenjar limfe regional:
NX : Kelenjar limfe regional tidak dapat dinilai
N0 : Tidak ada metastasis ke kelenjar limfe regional
N1 : Metastasis ke kelenjar limfe aksilla ipsilateral yang masih dapat digerakkan
N2 : Metastasis ke kelenjar aksilla ipsilateral yang sulit digerakkan
N3 : Metastasis ke kelenjar limfe infraklavikula atau supraklavikula
M (metastasis), penyebaran jauh:
MX : Metastasis jauh belum dapat dinilai
M0 : Tidak terdapat metastasis jauh
M1 : Terdapat metastasis jauh

Sumber: Greene, et al., 2002; Hunt et al., 2008

Secara garis besar, stadium kanker seseorang dilihat dari besar kecilnya ukuran tumor primer (T), ada tidaknya penyebaran kanker ke kelenjar limfe regional (N) dan ada tidaknya bukti penyebaran sel kanker melalui pembuluh darah ke organ lain (M) seperti yang ditampilkan pada Tabel 2. (Greene et al., 2002; Hunt et al., 2008)

Setelah masing-masing faktor T, N, dan M didapatkan, ketiga faktor

tersebut kemudian digabung dan akan diperoleh stadium klinis kanker (Tabel 3). (Greene et al., 2002; Hunt et al., 2008)

Tabel 3. Klasifikasi stadium klinis berdasarkan klasifikasi TNM *carcinoma mammae*

Stadium 0	T0 N0 M0
Stadium I	T1 N0 M0
Stadium II A	T0 N1 M0 / T1 N1 M0 / T2 N0 M0
Stadium II B	T2 N1 M0 / T3 N0 M0
Stadium III A	T0 N2 M0 / T1 N2 M0 / T2 N2 M0 / T3 N1 M0 / T3 N2 M0
Stadium III B	T4 N0 M0 / T4 N1 M0 / T4 N2 M0
Stadium III C	Tiap T N3 M0
Stadium IV	Tiap T-Tiap N-M1

Sumber: Greene et al., 2002; Hunt et al., 2008

Berdasarkan prognosis dan penanganan *carcinoma mammae*, stadium penderita *carcinoma mammae* selanjutnya dibagi menjadi *carcinoma mammae* stadium dini yang terdiri atas stadium I, II A, II B, dan stadium lanjut yaitu stadium III dan IV. Stadium lanjut kemudian dibagi menjadi stadium lanjut lokal yaitu stadium III A, III B, III C dan stadium lanjut metastasis yaitu stadium IV. Pembesaran kelenjar limfe regional pada *carcinoma mammae* masih merupakan tahap non metastasis dan dikatakan metastasis jika sudah terjadi penyebaran ke organ jauh misalnya paru-paru, hati dan atau tulang. Penatalaksanaan stadium dini adalah tindakan operatif dan stadium lanjut adalah kemoterapi yang merupakan terapi awal. (Hunt et al., 2008)

B. Matrix Metalloproteinase

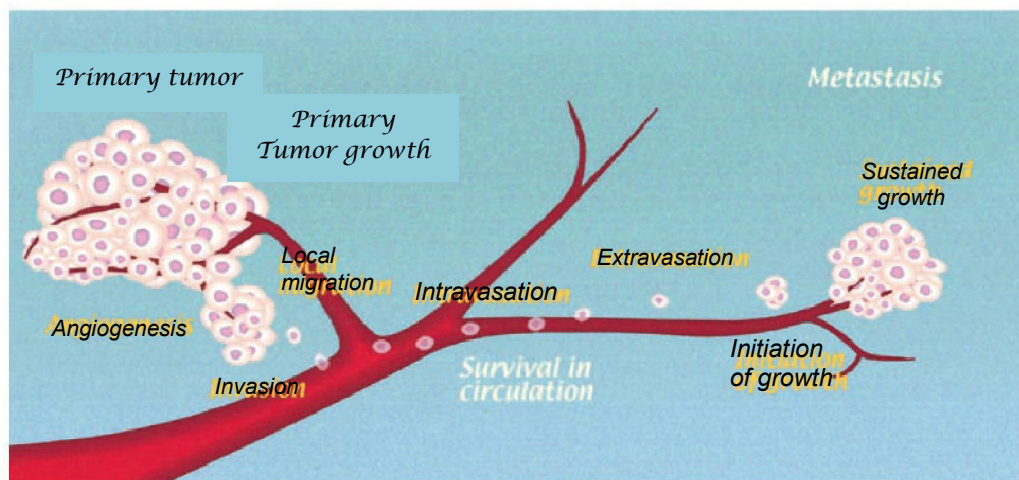
Matrix metalloproteinase adalah salah satu famili proteinase yang memegang peranan penting dalam respon sel terhadap lingkungan mikro sel tersebut. *Matrix metalloproteinase* mempunyai kapasitas untuk mendegradasi berbagai komponen ECM, yang berperan pada modulasi struktur jaringan untuk memfasilitasi *remodelling* dan migrasi sel. (Lee dan Murphy, 2004)

Matrix metalloproteinase pada keadaan normal hanya terbentuk pada tempat dan saat *remodelling* jaringan terjadi seperti saat perkembangan embrio, proses penyembuhan luka, involusi kelenjar payudara dan uterus, ovulasi, transisi antara kartilago menjadi tulang sejati dalam proses osifikasi dan dalam proses invasi trofoblast ke dalam stroma endometrium saat pembentukan plasenta. (Rundhaug, 2003)

Ekspresi berbagai MMP telah ditemukan pada hampir semua jenis kanker pada manusia dan berkorelasi dengan stadium lanjut, sifat invasif dan metastasis serta prognosis yang buruk pada kanker. Ekspresi awal MMP, baik oleh sel-sel tumor itu sendiri atau sel-sel stroma sekitarnya yang membantu untuk *remodeling* ECM dan melepaskan *growth factor*, yang menyediakan lingkungan mikro yang menguntungkan untuk pembentukan tumor primer. (Rundhaug, 2003)

Peranan MMP dalam proses keganasan mulai banyak dipelajari, yaitu sebagai berikut: (Gambar 3) membantu pembentukan lingkungan mikro yang mendukung bagi pertumbuhan tumor yang diperkirakan terjadi

melalui pelepasan *growth factor* dari ECM dan, membantu proses angiogenesis tumor dan peningkatan kemampuan sel tumor untuk bermigrasi dan menginvasi stroma disekitarnya, berperan dalam modifikasi lingkungan mikro baru di tempat metastasis sehingga membantu proses pertumbuhan sel tumor metastasis di lingkungan barunya dan berperan dalam proses angiogenesis pada lokasi metastasis sehingga mendukung kelangsungan hidup sel tumor metastasis. (Rundhaug, 2003)



Gambar 3. Peranan MMP pada kanker (Rundhaug, 2003)

Peranan MMP pada kanker meliputi: pembentukan lingkungan mikro untuk pertumbuhan tumor, angiogenesis, kemampuan sel tumor untuk migrasi, invasi, intravasasi, ekstrasvasasi dan kelangsungan hidup sel tumor metastasis

Saat ini terdapat lebih dari dua puluh anggota famili MMP dan semuanya dapat dikelompokkan berdasarkan strukturnya. Struktur MMP secara garis besar terdiri dari *peptide signal*, prodomain dan domain katalitik. *Matrix metalloproteinase* secara garis besar terbagi menurut spesifisitas substratnya, terdapat lima subgroup MMP yaitu:

1. Collagenase (MMP-1, 8 dan 13)
2. Gelatinase (MMP-2 dan 9)
3. Stromelysin (MMP-3, 10, 11 dan 19)
4. Matrilysin (MMP-7, 12, 18)
5. *Membrane bound MMP* (MTMMP-1, 4)

Matrix metalloproteinase memegang peranan penting pada metastasis sel tumor. *Matrix metalloproteinase* termasuk golongan *zinc metalloproteinase* yang disekresikan dalam bentuk proenzim yang dapat diaktifkan melalui perombakan proteolitik dan dihambat oleh inhibitor metalloproteinase jaringan (*tissue inhibitors of metalloproteinase, TIMP's*). Apabila diaktivasi, MMP dapat menghancurkan berbagai komponen ECM, khususnya kolagen interstisial (tipe I-III), membran basal (tipe IV) atau kolagen tipe V. (Kresno, 2011)

Dua gelatinase yaitu MMP-2 dan MMP-9 akhir-akhir ini mendapatkan banyak perhatian dan merupakan jenis MMP yang paling sering diteliti dan dipelajari karena sangat berhubungan dengan pertumbuhan dan perkembangan sel kanker. (Decock et al., 2008) *Matrix Metalloproteinase 2* disekresi oleh sel mesenkimal terutama fibroblast selama perkembangan dan regenerasi jaringan dan dapat mendegradasi sejumlah komponen ECM meliputi kolagen tipe IV, V, VII, XI, fibronektin, laminin, elastin, *agrecan core protein* dan *cartilage link protein*. *Matrix Metalloproteinase 9* disekresi oleh sel fibroblast, sel endotel, sel polimorf nuklear, keratinosit dan makrofag. dapat mendegradasi *triple helix*

kolagen tipe IV dari lamina basalis yang ditemukan pada membran basalis. Enzim ini juga memiliki kemampuan tinggi dalam proses gelatinolitik yang mendegradasi kolagen tipe V, VII, IX dan X, fibronektin dan elastin. (Hemati et al., 2010)

Matrix metalloproteinase 2 (MMP-2, gelatinase A) adalah anggota famili matrixin dengan berat molekul 72 kilodalton. Gelatinase A pertama kali dideskripsikan dan dimurnikan dari tumor murin metastasis dan dikultur pada sel melanoma. Struktur primer MMP-2 terdiri atas tiga domain yaitu: *catalytic domain*, *amino-terminal domain* dan *carboxy-terminal domain*. (Klein et al., 2004; Itoh et al.' 1995) *Matrix metalloproteinase 2* mempunyai kemampuan mendegradasi sejumlah komponen ECM meliputi kolagen tipe IV, V, VII, XI, fibronektin, laminin, elastin, *agrecan core protein* dan *cartilage link protein*. *Matrix metalloproteinase 2* dilepaskan oleh sel mesenkimal terutama fibroblast selama perkembangan dan regenerasi jaringan. Gelatinase A diisolasi dari tumor malignan pada tikus dan ditemukan pada sel stroma sekitar sisi invasi tumor metastasis. Hal ini mengindikasikan bahwa aktivitas kolagenolitik tipe IV dibutuhkan oleh sel-sel tumor metastasis untuk melewati membran basal pada jaringan sekitar dan pada pembuluh darah. (Morgunova et al., 1999)

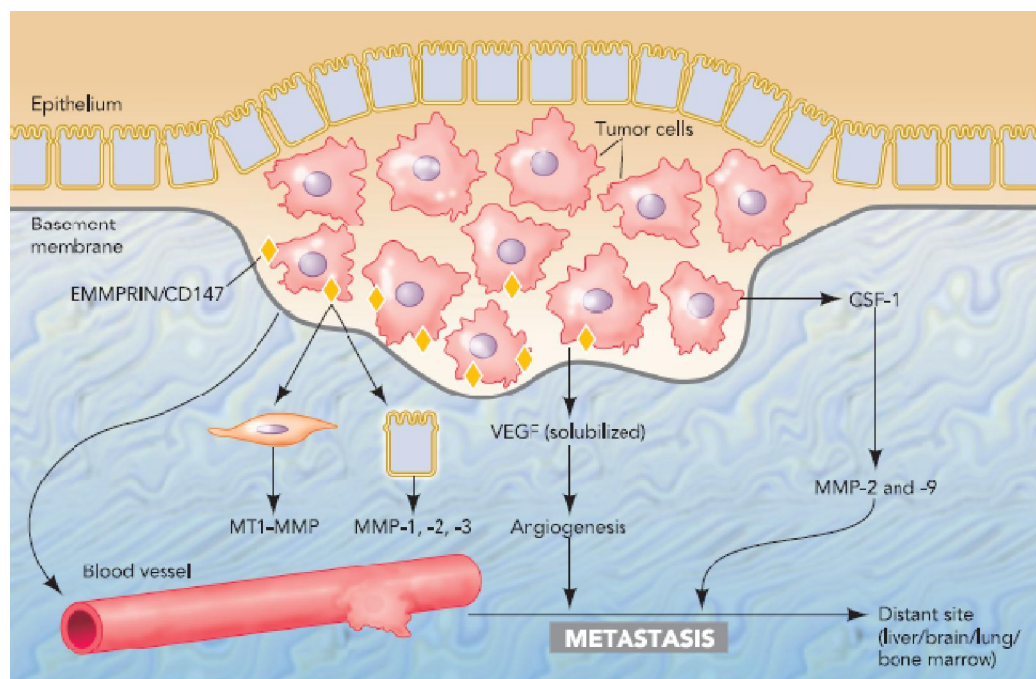
Matrix metalloproteinase-2 berhubungan dengan invasi tumor dan metastasis oleh kemampuannya untuk *remodelling* jaringan melalui degradasi ECM serta membran basal dan induksi *angiogenesis*.

Gelatinase A disekresi sebagai zimogen dan dipecah menjadi bentuk aktif untuk aktivitas katalitiknya dan fungsinya diatur secara ketat oleh beberapa mekanisme yang berbeda. (Pellikainen et al., 2004) Tiga mekanisme untuk aktivasi proMMP-2 yaitu aktivasi autokatalitik, aktivasi TIMP-2 dan aktivasi sistem *urokinase-type plasminogen activator* untuk proses aktivasi proMMP-2 menjadi bentuk *intermediate* dan selanjutnya menjadi MMP-2 aktif. (Klein et al., 2004; Vasala, 2008)

Sel malignan mengekspresikan *extracellular matrix metalloproteinase inducer* (EMMPRIN) pada permukaan sel yang merupakan stimulator kuat untuk memproduksi MMP-2 oleh sel endotel. Sel-sel tumor juga telah menunjukkan adanya MMP-2 yang direkrut ke dalam jaringan tumor oleh produksi *colony-stimulating factor-1* (CSF-1). *Colony-stimulating factor-1* ekspres pada 70% *carcinoma mammae* dan berhubungan dengan prognosis yang buruk (Gambar 4). (Sengupta and MacDonal, 2007)

Protein ECM dapat berinteraksi langsung dengan sel melalui *receptor-mediated signaling* dengan reseptor sitokin, reseptor *growth factor* dan reseptor sel adhesi yang lain. Semua reseptor ini penting untuk mengatur fungsi biologi seperti proliferasi, apoptosis dan migrasi. Sejumlah reseptor sel adhesi dapat memberi signal melalui *receptor-mediated signaling* yang dikenal sebagai integrin. Reseptor integrin yang terlibat dalam angiogenesis dan pertumbuhan tumor adalah $\alpha_v\beta_3$ -integrin. Aktivasi MMP-2 mempunyai kemampuan untuk mengikat $\alpha_v\beta_3$ -integrin melalui fibronektin. Ikatan MMP-2 dengan $\alpha_v\beta_3$ -integrin mengakibatkan lokalisasi

primer MMP-2 pada membran. Pada migrasi sel dan interaksi matriks dengan sel, $\alpha_v\beta_3$ -integrin terletak pada sisi adhesi focal dan mempromosi penyebaran sel dan migrasi. Ikatan MMP-2 pada $\alpha_v\beta_3$ -integrin dapat menginisiasi signal integrin dan berkontribusi pada survival sel endotel dan proliferasi. (Klein et al., 2004; Rundhaug, 2003)



Gambar 4. Peranan MMP-2 pada metastasis tumor (Sengupta, 2007)
 EMMPRIN berfungsi sebagai stimulator untuk memproduksi MMP-2 . Sel-sel tumor menunjukkan rekrut MMP-2 ke dalam jaringan tumor oleh produksi CSF-1. Keterangan : EMMPRIN: Extracellular matrix metalloproteinase inducer, VEGF: Vascular endothelial growth factor, MMP: Matrix metalloproteinase, MT1-MMP: Membrane type 1-matrix metalloproteinase, CSF: Colony-stimulating factor-1.

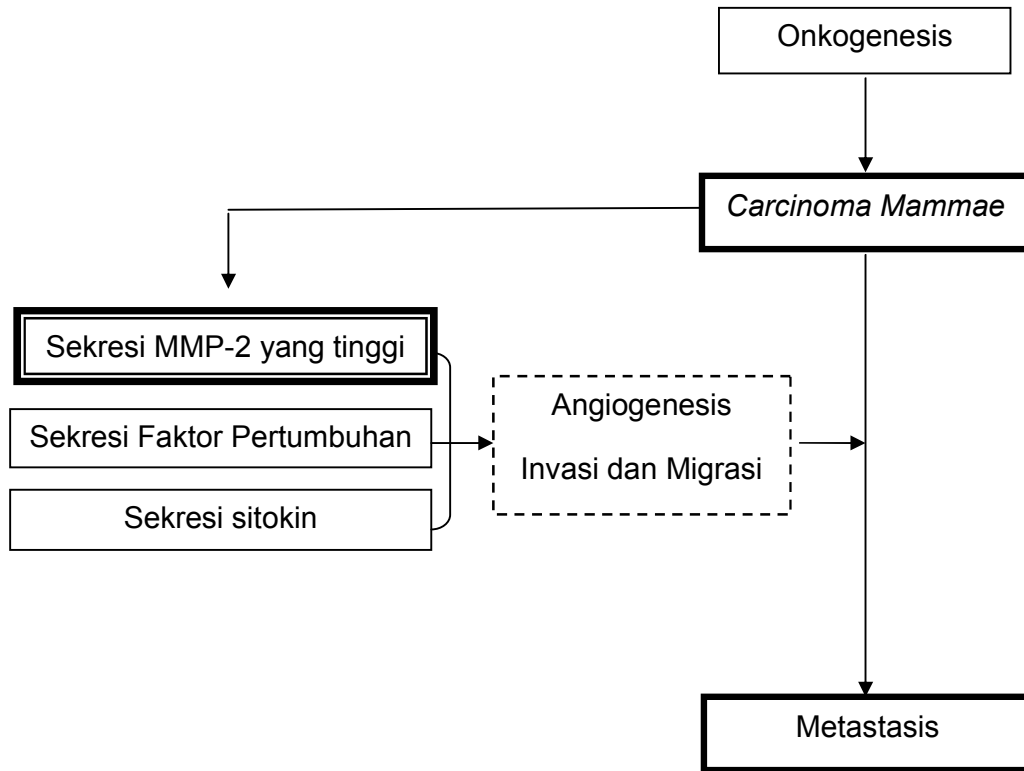
Matrix metalloproteinase 2 diketahui terlibat dalam *angiogenesis* tumor terutama melalui kemampuan degradatifnya. Degradasi ECM dapat mengakibatkan migrasi sel tumor dan sel endotel karena hilangnya kontak sel dengan matriks dan kontak antar sel. Degradasi laminin-5(Ln-5) oleh

MMP-2 akan meningkatkan migrasi sel endotel. *Matrix metalloproteinase* juga dapat merangsang pelepasan *growth factor* dari ECM, membelah reseptor *growth factor* dan mengaktifkan *growth factor* yang diekskresikan sebagai pra-pro-enzym seperti *transforming growth factor- α* (TGF- α), *macrophage-colony stimulating factor* (M-CSF), *insulin like growth factor* (IGF) dan *fibroblast growth factor receptor* (FGFR). *Matrix metalloproteinase 2* secara langsung ataupun tidak langsung menginduksi angiogenesis melalui degradasi ECM dan pelepasan atau aktivasi *growth factor* seperti TNF- α dan TGF- β . (Klein et al., 2004)

Aktivitas MMP-2 menginduksi migrasi sel epitel payudara dengan mengatur fungsi komponen spesifik ECM. Adhesi dan migrasi sel pada substrat ECM menggunakan reseptor integrin. Efek gelatinase A pada komponen membran basal menunjukkan bahwa bentuk aktif gelatinase A yang memecah subunit laminin 5 (Ln-5) pada residu 587, menunjukkan sisi *cryptic promigratory putative* yang memicu motilitas sel tetapi tidak memicu adhesi sel. Bukti bahwa sisi *pro-motility cryptic* tidak mendukung adhesi yang menunjukkan bahwa aktifitas proteolitik gelatinase A yang memberi mekanisme signal pada sel untuk memulai migrasi selama morfogenesis kelenjar payudara, yang ditunjukkan oleh respon migrasi yang meningkat pada modifikasi gelatinase A dari Ln-5 pada sel epitel neoplastik kelenjar payudara. Adhesi dan migrasi sel dipengaruhi oleh kadar gelatinase A, degradasi proteolitik ECM ditambah dengan stimulasi gerakan sel oleh fragmen proteolitik yang dihasilkan oleh aktivitas

protease, sehingga aktivitas gelatinase menciptakan gradien rangsangan *chemotactic* yang meningkatkan dan mengarahkan migrasi sel. (Amalinei et al., 2010)

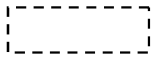
B. Kerangka Konsep




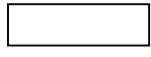
Keterangan:

MMP-2 = *Matrix Metalloproteinase-2*

 = Variabel tergantung

 = Variabel antara

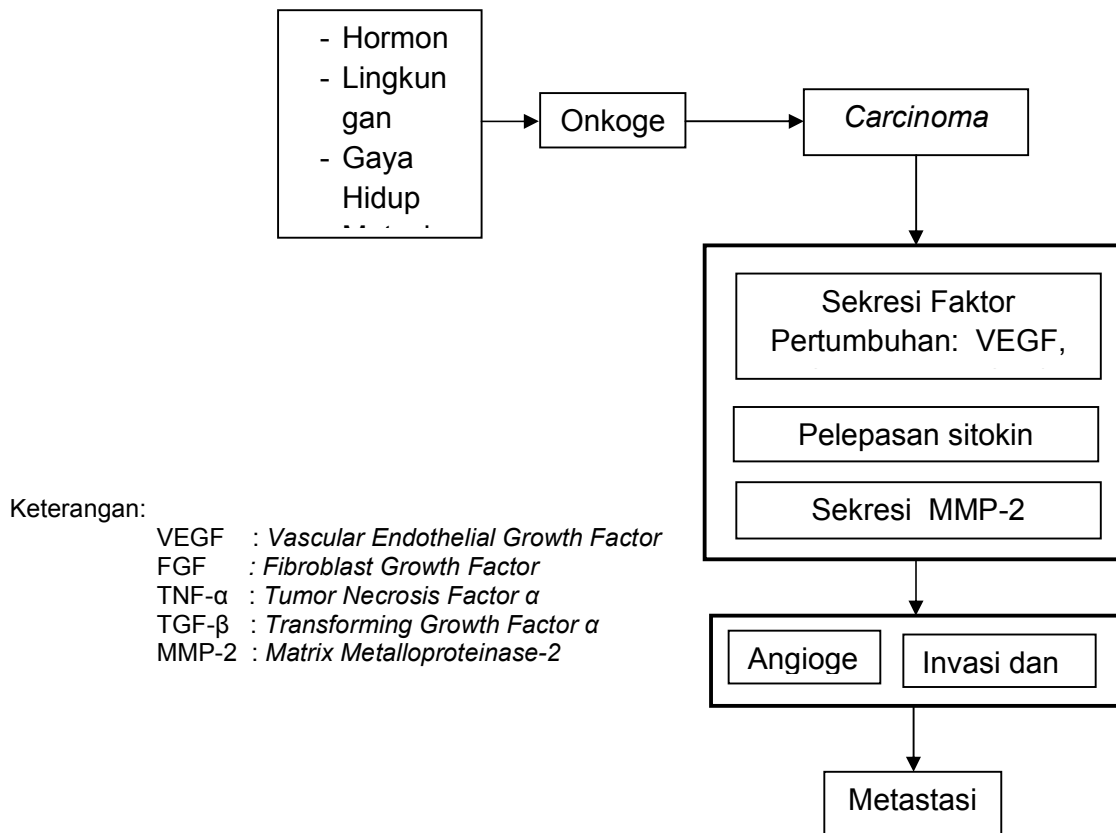
 = Variabel bebas yang diteliti

 = Variabel yang tidak diteliti

BAB III

KERANGKA PENELITIAN

A. Kerangka Teori



BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian *cross sectional*, menganalisis kadar MMP-2 pada penderita *carcinoma mammae* dengan metastasis dan non metastasis.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat penelitian

- a. Poliklinik dan Instalasi Rawat Inap Bedah Onkologi RSUP. Dr. Wahidin Sudirohusodo , Rumah Sakit Ibnu Sina dan Rumah Sakit Labuang Baji Makassar untuk pengambilan sampel.
- b. Unit Penelitian FK UNHAS dan Instalasi Laboratorium Patologi Klinik RSUP. Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar untuk pemeriksaan sampel.

2. Waktu penelitian

Penelitian dilakukan mulai bulan April 2012 sampai Juni 2012.

C. Populasi Penelitian

Populasi terjangkau adalah semua penderita suspek *carcinoma mammae* yang memeriksakan diri di Poliklinik Bedah Onkologi dan

penderita yang dirawat di ruang perawatan bedah onkologi RSUP. Dr. Wahidin Sudirohusodo, RS Ibnu Sina dan RS Labuang Baji Makassar.

D. Sampel dan Cara Pemilihan Sampel

Sampel adalah seluruh populasi terjangkau yang memenuhi kriteria inklusi. Subyek penelitian diperoleh berdasarkan urutan masuknya di rumah sakit, kemudian dikelompokkan menjadi dua kelompok yaitu penderita *carcinoma mammae* dengan metastasis dan *carcinoma mammae* non metastasis.

E. Perkiraan Besar Sampel

Besar sampel diperkirakan berdasarkan rumus:

$$n = \frac{Z\alpha^2 PQ}{d^2}$$

Keterangan:

n = Besar sampel minimal

$Z\alpha$ = nilai standar untuk 0,05 = 1,96

P = Proporsi variabel yang diteliti = 0,18

Q = 1 – P = 0,82

d = tingkat ketepatan absolut yang dikehendaki = 0,1

Jumlah sampel minimal dalam penelitian ini:

$$\begin{aligned} n &= \frac{(1,96)^2 (0,18) (0,82)}{(0,1)^2} \\ &= 56 \text{ sampel} \end{aligned}$$

F. Kriteria Inklusi dan Eksklusi

1. Kriteria Inklusi

- 1) Wanita dewasa yang didiagnosis menderita *carcinoma mammae* dan telah dikonfirmasi dengan hasil pemeriksaan histopatologi.
- 2) Belum pernah mendapat penanganan *carcinoma mammae*.
- 3) Bersedia ikut dalam penelitian dengan menandatangani *informed consent*.

2. Kriteria Eksklusi

- a. Spesimen serum ikterik atau hemolisis.

G. Izin Penelitian dan Kelaikan Etik

Setiap tindakan yang dilakukan dalam pelaksanaan penelitian ini mendapat izin dan sepengetahuan pasien yang dijadikan sampel penelitian melalui lembar *informed consent* dan dinyatakan memenuhi persyaratan etik untuk dilaksanakan dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar.

H. Cara Kerja

1. Alokasi Subyek

Subyek penelitian yang telah memenuhi kriteria inklusi yang dibagi menjadi dua kelompok yaitu penderita *carcinoma mammae* dengan

metastasis dan non metastasis yang dirawat di RSUP. Dr. Wahidin Sudirohusodo, RS Ibnu Sina dan RS Labuang Baji Makassar.

2. Cara Penelitian

- a. Melakukan pencatatan identitas penderita yang memenuhi kriteria inklusi dan memberikan penjelasan lengkap mengenai apa yang akan dilakukan terhadap mereka dan bila setuju mereka akan mengisi dan menandatangani *informed consent*.
- b. Pada subyek penelitian yang memenuhi kriteria inklusi dilakukan pengambilan sampel darah vena sebanyak 3 cc.
- c. Pemeriksaan kadar MMP-2 dilakukan di Unit Penelitian FK UNHAS.

3. Tes Laboratorium

Tes MMP-2 dengan kit MMP-2 Quantikine (R&D System, Minneapolis).

- a. Persiapan sampel
 - 1) Jenis sampel: serum, diencerkan 10 kali dengan mencampur 25 μ L serum dengan 225 μ L diluen kalibrator RD5-32.
 - 2) Sampel stabil selama 24 jam pada suhu 2-8°C.
- b. Alat dan Bahan
 - 1) 96 *well microplate* yang dilapisi antibodi poliklonal anti human MMP-2
 - 2) *Total MMP-2 Conjugate*: antibodi poliklonal anti human MMP-2 terkonyugasi *horseradish peroxidase*

- 3) Larutan standar
- 4) *Assay diluents RD1-74*
- 5) *Calibrator Diluent RD5-32*
- 6) *Wash Buffer Concentrate*
- 7) *Color Reagent A* (hidrogen peroksida)
- 8) *Color Reagent B* (kromogen tetramethylbenzidine).
- 9) *Stop Solution*
- 10) *Plate Covers*
- 11) *ELISA reader*

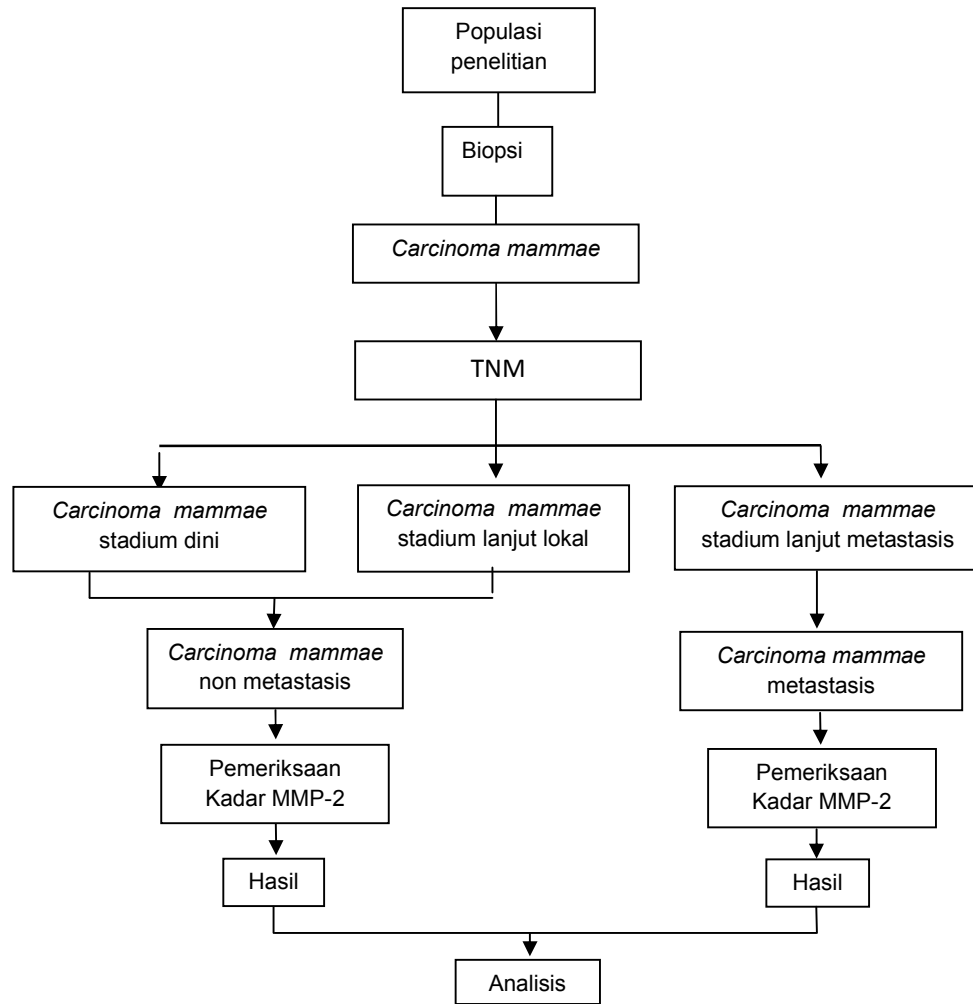
c. Prinsip Tes

Tes ini berdasarkan prinsip *sandwich enzyme immunoassay*. *Microplate* telah dilapisi antibodi poliklonal spesifik untuk MMP-2. Larutan standar dan sampel dimasukkan ke dalam *well*, dan akan terikat pada antibodi yang terimobilisasi. Setelah inkubasi dilakukan pencucian untuk membuang substansi yang tidak terikat. Antibodi poliklonal spesifik untuk MMP-2 yang terikat enzim kemudian ditambahkan. Setelah inkubasi dan pencucian untuk membuang enzim yang tidak terikat, ditambahkan larutan substrat yang akan bereaksi dengan enzim dan terbentuk warna. Intensitas warna yang terbentuk sebanding dengan konsentrasi MMP-2 dalam sampel.

d. Cara Kerja

- 1) Reagen, larutan standar dan sampel dipersiapkan sesuai petunjuk.
- 2) Sebanyak 100 μL *Assay Diluent* RD1-74 ditambahkan ke tiap sumur.
- 3) Sebanyak 50 μL larutan standar, kontrol dan sampel ditambahkan kedalam sumur dan diinkubasi selama dua jam pada suhu ruangan di dalam *microplate shaker*.
- 4) Lempeng sumur diaspirasi dan dicuci sebanyak empat kali.
- 5) Sebanyak 200 μL *conjugate* ditambahkan ke tiap sumur dan diinkubasi selama dua jam pada suhu ruangan di dalam *shaker*.
- 6) Langkah ke-4 diulangi kembali.
- 7) Sebanyak 200 μL larutan substrat ditambahkan ke tiap sumur dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruangan dan dilindungi dari cahaya.
- 8) Sebanyak 50 μL *stop solution* ditambahkan ke tiap sumur dan dibaca menggunakan alat spektrofotometer pada panjang gelombang 450 nm.

I. Alur Penelitian



J. Definisi Operasional dan Kriteria Objektif

Definisi Operasional

1. Penderita *Carcinoma mammae* adalah penderita yang didiagnosis oleh klinisi bagian Bedah Onkologi sebagai penderita *carcinoma mammae* berdasarkan hasil biopsi.
2. Penderita *carcinoma mammae* metastasis adalah penderita yang didiagnosis oleh klinisi bagian Bedah Onkologi sebagai penderita *carcinoma mammae* yang sudah bermetastasis ke organ-organ tertentu berdasarkan hasil foto toraks dan atau USG hepar dan atau *bone scan*.
3. Penderita *carcinoma mammae* non metastasis adalah penderita yang didiagnosis oleh klinisi bagian Bedah Onkologi sebagai penderita *carcinoma mammae* tanpa metastasis ke organ-organ tertentu berdasarkan hasil foto toraks dan atau USG hepar dan atau *bone scan*.
4. Penderita *carcinoma mammae* stadium lanjut adalah penderita *carcinoma mammae* yang terdiri dari stadium III A, III B, III C dan IV berdasarkan TNM.
5. Penderita *carcinoma mammae* stadium dini adalah penderita *carcinoma mammae* yang terdiri atas stadium I, II A, II B berdasarkan TNM.
6. Kadar *Matrix Metalloproteinase-2* adalah kadar MMP-2 di dalam serum penderita yang diukur dengan menggunakan kit MMP-2

Quantikine (R&D System, Minneapolis) berdasarkan prinsip ELISA yang dinyatakan dalam satuan ng/mL.

J. Metode Analisis

Data yang terkumpul dikelompokkan berdasarkan tujuan dan jenis data, kemudian dipilih metode statistik yang sesuai.

1. Analisis Univariat

Digunakan untuk deskripsi karakteristik data dasar berupa distribusi frekuensi, nilai rerata, simpang baku dan rentangan.

2. Analisis Bivariat / Multivariat

- a. *Independent Sample T test* digunakan untuk membandingkan dua variabel tidak berpasangan yang keduanya berskala numerik dengan data yang berdistribusi normal.
- b. *One Way Anova test* digunakan untuk membandingkan lebih dari dua variabel tidak berpasangan yang berskala numerik dengan data yang berdistribusi normal.

Hasil uji hipotesis dinyatakan sebagai berikut:

- 1) Tidak bermakna, jika $p > 0,05$
- 2) Bermakna, jika $p \leq 0,05$
- 3) Sangat bermakna, jika $p < 0,01$

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Karakteristik Sampel Penelitian

Penelitian dilakukan selama periode April 2012 - Juni 2012, diperoleh 56 subyek penelitian kelompok *carcinoma mammae* yang terdiri dari 44 subyek kelompok non metastasis dan 12 subyek kelompok metastasis. Rentang umur pada kelompok *carcinoma mammae* berkisar 31-68 tahun. Berdasarkan diagnosis histopatologi ditemukan *adenocarcinoma mammae*, *invasive ductal carcinoma mammae* dan *carcinoma mammae*. Berdasarkan stadium ditemukan 42 orang berada pada stadium lanjut yang terdiri dari 30 orang (53,6%) pada stadium lanjut lokal dan 12 orang (21,4%) pada stadium lanjut metastasis (Tabel 4). Rerata kadar MMP-2 pada *carcinoma mammae* non metastasis adalah 17,42 ng/mL dan metastasis adalah 20,18 ng/mL

Tabel 4. Karakteristik subyek penelitian

Variabel	n(%)	MMP-2 (Rerata \pm SD) (ng/mL)
Umur (Tahun)		
31 – 40	18(32,1)	19,39 \pm 4,24
41 – 50	26(46,4)	16,98 \pm 3,92
51 – 60	7(12,5)	16,42 \pm 4,90
>60	5(8,9)	20,54 \pm 3,28
Stadium berdasarkan TNM		
Stadium Dini	14(25,0)	17,10 \pm 3,47
Stadium Lanjut	42(75,0)	18,31 \pm 4,46
Stadium Lanjut Lokal	30(53,6)	17,56 \pm 4,29
Stadium Lanjut Metastasis	12(21,4)	20,18 \pm 4,49
Diagnosis Histopatologi		
<i>Adenocarcinoma Mammae</i>	22(39,3)	17,55 \pm 4,29
<i>Invasive Ductal Carcinoma Mammae</i>	21(37,5)	18,02 \pm 5,10
<i>Carcinoma Mammae</i>	13(23,2)	18,76 \pm 2,35

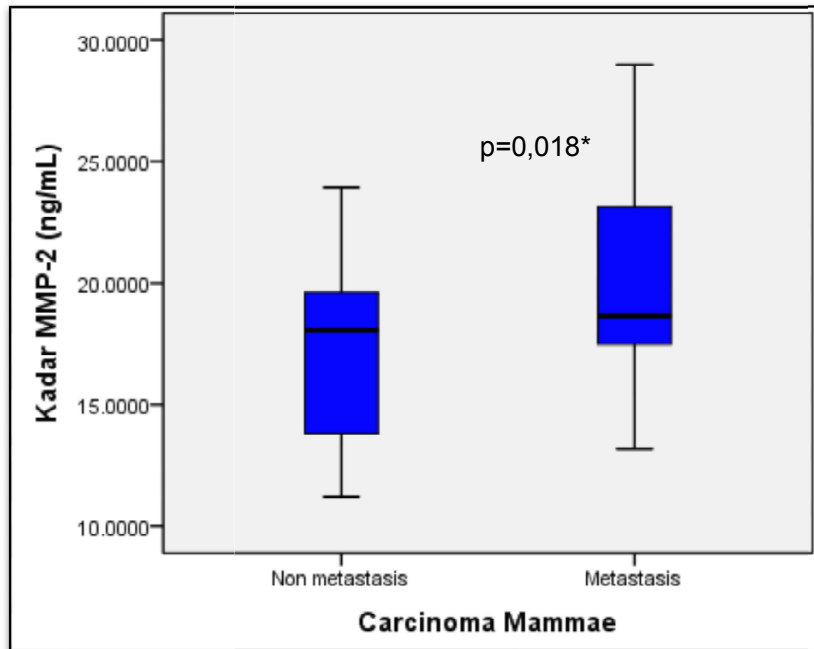
Sumber : Data Primer

Keterangan : n= Jumlah sampel

2. Kadar MMP-2 pada *Carcinoma Mammae* Non Metastasis dan Metastasis

Analisis kadar MMP-2 pada *carcinoma mammae* non metastasis dan metastasis hanya terdiri dari 55 subyek karena subyek no 15 dikeluarkan dari analisis. Rentang kadar MMP-2 pada penderita *carcinoma mammae* non metastasis adalah 11,19–23,94 ng/mL dengan rerata 17,14 \pm 3,61 ng/mL, sedangkan pada metastasis adalah 13,19–29,00 ng/mL dengan rerata 20,18 \pm 1,3 ng/mL. Uji statistik

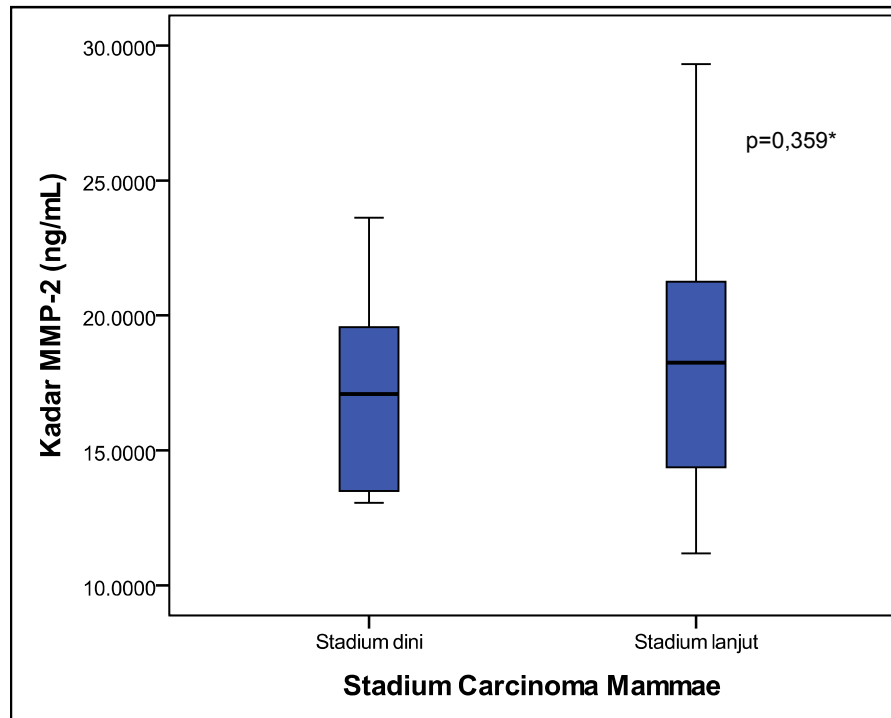
dengan *independent sample T test* menunjukkan ada perbedaan bermakna kadar MMP-2 antara penderita *carcinoma mammae* non metastasis dan metastasis ($p=0,018$) (Gambar 5).



Gambar 5. Perbandingan kadar MMP-2 pada *carcinoma mammae* stadium dini dan stadium lanjut.
Keterangan : * = *Independent sample T test*.

3. Kadar MMP-2 pada *Carcinoma Mammae* Stadium Dini dan Stadium Lanjut

Rerata kadar MMP-2 pada *carcinoma mammae* stadium lanjut lebih tinggi daripada stadium dini (Tabel 4 dan Gambar 5), namun uji statistik dengan *Independent sample T test* menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna antara kedua stadium ($p=0,359$).



Gambar 6. Perbandingan kadar MMP-2 pada *carcinoma mammae* stadium dini dan stadium lanjut.
Keterangan : * = *Independent sample T test*.

4. Kadar MMP-2 berdasarkan Ukuran Tumor (T) dan Infiltrasi ke Kelenjar Limfe Regional (N)

Kadar MMP-2 berdasarkan ukuran tumor didapatkan lebih tinggi pada T4 (Tabel 4), namun uji statistik dengan *One Way Anova test* menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna ($p=0,264$). Kadar MMP-2 berdasarkan jumlah nodus didapatkan lebih tinggi pada N0 (Tabel 4), namun uji statistik dengan *One way anova test* menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna ($p=0,769$)

Tabel 5. Kadar MMP-2 serum berdasarkan ukuran tumor dan infiltrasi ke kelenjar limfe regional

	n	(%)	Rerata MMP-2 \pm SD (ng/mL)	<i>p</i> *
Ukuran Tumor				
T1	2	(3,60)	15,56 \pm 3,54	0,196
T2	8	(14,3)	16,29 \pm 3,31	
T3	8	(14,3)	16,69 \pm 3,92	
T4	38	(67,9)	18,78 \pm 4,41	
Infiltrasi Kelenjar Limfe				
N0	28	(50,0)	18,40 \pm 4,81	0,769
N1	11	(19,6)	18,19 \pm 4,42	
N2	9	(16,1)	16,67 \pm 2,35	
N3	8	(14,1)	17,88 \pm 3,78	

Keterangan: * = *One way anova test*

B. Pembahasan

Rentang umur penderita *carcinoma mammae* pada penelitian ini berkisar 31 – 68 tahun dengan kelompok umur terbanyak pada 41 – 50 tahun (46,4%). Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian Azamris (2006) dan Sevianty (2011) yang menunjukkan bahwa umur yang terbanyak menderita *carcinoma mammae* berkisar antara umur 40-50 tahun. Risiko untuk terjadinya *carcinoma mammae* meningkat dari 1:15.300 pada umur dekade ketiga menjadi 1:52 pada umur dekade keempat. Risiko terjadinya *carcinoma mammae* bertambah sebanding dengan pertambahan umur dengan tingkat kenaikan terbesar sebelum menopause, hubungan ini diduga karena pengaruh paparan hormonal yang lama yaitu hormon estrogen dan progesteron yang berpengaruh

terhadap proliferasi jaringan payudara. (Cancer Research UK, 2009; Hukom, 2003) Pada penelitian ini sebagian besar penderita *carcinoma mammae* berada pada stadium lanjut yaitu 42 orang (75%). Keterlambatan diagnosis keganasan payudara disebabkan oleh kurangnya pengetahuan masyarakat tentang penyakit ini sehingga penderita terlambat memeriksakan diri secara dini. (Rasjidi, 2010)

Kadar MMP-2 ditemukan lebih tinggi pada *carcinoma mammae* metastasis dibandingkan dengan non metastasis. Analisis kadar MMP-2 antara *carcinoma mammae* metastasis dan non metastasis pada penelitian ini menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$). Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian Liu et al. (2006) yang menemukan bahwa kadar MMP-2 meningkat secara bermakna pada penderita *carcinoma mammae* metastasis. Hasil ini mendukung peran MMP-2 dalam proses metastasis dan berpotensi sebagai biomarker untuk memprediksi metastasis *carcinoma mammae*. Pada subyek non metastasis didapatkan satu subyek dengan kadar MMP-2 yang ekstrim tinggi yaitu subyek 15 ternyata berada pada stadium lanjut lokal yang kemungkinan pada subyek ini sudah terjadi mikrometastasis yang belum terdeteksi dengan foto toraks atau USG. Subyek ini kemudian dikeluarkan dari analisis kadar MMP-2 metastasis dan non metastasis. Pada penelitian ini tidak dapat ditentukan nilai *cut off* kadar MMP-2 antara *carcinoma mammae* metastasis dan non metastasis karena jumlah sampel yang minimal dan adanya kadar MMP-2 yang tumpang tindih antara keduanya.

Peningkatan proteolisis pada jaringan tumor memainkan peran penting dalam perkembangan tumor dan metastasis. Proses metastasis merupakan kaskade yang kompleks yang banyak membutuhkan degradasi aktif jaringan host oleh enzim proteolitik. (Garbett et al., 2000) Keterlibatan MMP-2 pada proses kanker dibagi atas tiga proses utama yaitu angiogenesis tumor, pertumbuhan tumor dan proses metastasis. Peran MMP-2 pada metastasis melalui kemampuan degradasi ECM yang mengakibatkan migrasi sel epitel karena hilangnya kontak sel dengan matriks dan kontak antar sel. Degradasi laminin 5 oleh MMP-2 juga meningkatkan migrasi sel endotel. (Klein et al., 2004) Kemampuan tumor untuk menginduksi angiogenesis pada host sangat berpengaruh pada proses metastasis. Aktivitas angiogenesis mengakibatkan ekspansi pertumbuhan tumor dan meningkatkan risiko metastasis. (Kresno, 2011) Aktivitas MMP-2 juga berperan dalam menginduksi angiogenesis melalui degradasi ECM dan pelepasan atau aktivasi *growth factor*. (Klein et al., 2004)

Kadar MMP-2 pada stadium dini dan stadium lanjut juga dianalisis pada penelitian ini. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar MMP-2 pada stadium lanjut lebih tinggi dari pada stadium dini dengan rerata 18,31 ng/mL dan 17,10 ng/mL , namun perbedaan ini tidak bermakna ($p > 0,05$). Hasil penelitian sebelumnya oleh Chen et al. (2001) yang menemukan bahwa kadar MMP-2 serum lebih tinggi pada penderita *carcinoma mammae* pada stadium TNM lanjut. Ketidakbermaknaan ini

kemungkinan disebabkan karena pada kelompok stadium lanjut terdiri atas subyek *carcinoma mammae* metastasis dan non metastasis. Aktivitas protease MMP-2 dapat diinhibisi oleh inhibitor alaminya yaitu *Tissue Inhibitor of Metalloproteinase-2* (TIMP-2). *Tissue Inhibitor of Metalloproteinase-2* berfungsi sebagai supresor invasi. Ekspresinya dalam sel tumor berbanding terbalik dengan kemampuan invasi sel bersangkutan. Secara umum kemampuan invasi ditentukan oleh rasio antara MMP-2 dan TIMP-2. Keseimbangan dinamis MMP-2/TIMP-2 berperan utama dalam mempertahankan integritas ECM. (Kresno, 2011; Fan et al., 2003) Salah satu keterbatasan penelitian ini adalah tidak diukurinya kadar TIMP-2 sehingga rasio MMP-2/TIMP-2 antara *carcinoma mammae* stadium dini dan stadium lanjut tidak dapat dianalisis. Keterbatasan lain pada penelitian ini adalah penderita *carcinoma mammae* yang disertai dengan ulkus tidak dieksklusi.

Kadar MMP-2 berdasarkan ukuran tumor hanya dianalisis pada ukuran tumor T2, T3 dan T4 karena T1 hanya terdiri dari dua sampel. Analisis kadar MMP-2 berdasarkan ukuran tumor didapatkan kadar MMP-2 meningkat sesuai dengan pertambahan ukuran tumor, namun perbedaan ini tidak bermakna ($p > 0,05$) dan analisis kadar MMP-2 berdasarkan infiltrasi ke kelenjar limfe regional juga didapatkan perbedaan yang tidak bermakna ($p > 0,05$). Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian Leppa et al. yang menunjukkan bahwa kadar MMP-2 cenderung lebih tinggi pada

penderita *carcinoma mammae* dengan tumor primer yang besar, namun tidak bermakna.

Secara keseluruhan hasil penelitian ini menunjukkan bahwa MMP-2 lebih berperan pada proses metastasis dibandingkan pada pertumbuhan tumor primer karena hanya didapatkan perbedaan bermakna pada analisis antara metastasis dan non metastasis, sedangkan analisis berdasarkan ukuran tumor dan stadium klinis tidak didapatkan perbedaan yang bermakna. Kadar MMP-2 serum tidak berperan pada pertumbuhan tumor primer.

Peran MMP-2 pada *carcinoma mammae* selain pada proses metastasis dan angiogenesis tumor, juga berperan pada proses pertumbuhan tumor. Protein ECM dapat berinteraksi langsung dengan sel melalui *receptor-mediated signaling* dengan reseptor sitokin, reseptor *growth factor* dan reseptor sel adhesi yang lain. Semua reseptor ini penting untuk mengatur fungsi biologi seperti proliferasi dan apoptosis sel. Sejumlah reseptor sel adhesi dapat memberi signal melalui *receptor-mediated signaling* yang dikenal sebagai integrin. Reseptor integrin yang terlibat pada pertumbuhan tumor dan angiogenesis adalah $\alpha_v\beta_3$ -integrin. Peran MMP-2 pada pertumbuhan kanker melalui kemampuan MMP-2 mengikat $\alpha_v\beta_3$ -integrin melalui fibronektin. Ikatan MMP-2 pada $\alpha_v\beta_3$ -integrin dapat menginisiasi signal integrin dan berkontribusi pada survival dan proliferasi sel. (Klein et al., 2004; Kresno, 2011)

Matrix metalloproteinase-2 dapat merangsang pelepasan *growth factor* dan mengaktifasi reseptor *growth factor* seperti $TNF-\alpha$ dan $TGF-\beta$ yang berperan dalam menginduksi angiogenesis tumor, selain itu juga merangsang dan mengaktifasi IGF dan $TGF-\alpha$ yang berperan pada proses pertumbuhan tumor. (Klein et al., 2004)

Keterbatasan penelitian ini selain tidak diukurnya rasio MMP-2 dan TIMP-2, juga tidak diketahuinya ekspresi integrin pada penderita *carcinoma mammae* ini sehingga peran MMP-2 dalam mengaktifasi integrin yang berkontribusi pada pertumbuhan tumor primer tidak dapat dianalisis.

BAB VI

SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

1. Kadar MMP-2 lebih tinggi pada *carcinoma mammae* metastasis dibandingkan dengan non metastasis dan terdapat perbedaan bermakna.
2. Kadar MMP-2 lebih tinggi pada *carcinoma mammae* stadium lanjut dibandingkan dengan stadium dini, namun tidak terdapat perbedaan bermakna.

B. Saran

1. Perlu penelitian untuk menentukan nilai *cut off* untuk membedakan orang sehat dan penderita *carcinoma mammae*.
2. Disarankan penelitian kohor untuk menentukan nilai prognostik.
3. Perlu penelitian rasio MMP-2 dan TIMP-2 pada penderita *carcinoma mammae*.

No	No Sampel	Nama	Umur	Kadar MMP 2 (ng/mL)	TNM			Stadium		Histopatologi
					T	N	M	TNM	Kategori Stadium	
1	06	N. Am	36	23,6250	T3	0	Non metastasis	IIA	Dini	Adenocarcinoma
2	07	Ht	43	18,3750	T4	0	Non metastasis	IIIB	Lanjut lokal	Adenocarcinoma
3	10	Hn	51	12,9375	T4	0	Non metastasis	IIIB	Lanjut lokal	Adenocarcinoma
4	18	Hr	43	12,1875	T4	0	Non metastasis	IIIB	Lanjut lokal	Invasive ductal carcinoma
5	19	Cy	58	11,1875	T4	0	Non metastasis	IIIB	Lanjut lokal	Adenocarcinoma
6	20	Bs	38	18,0625	T1	0	Non metastasis	IA	Dini	Carcinoma mammae
7	22	Rd	49	18,1875	T4	0	Non metastasis	IIIB	Lanjut lokal	Carcinoma mammae
8	28	Nt	38	17,3750	T3	0	Non metastasis	IIB	Dini	Carcinoma mammae
9	29	Am	45	13,3125	T2	0	Non metastasis	IIB	Dini	Invasive ductal carcinoma
10	34	Eb	42	16,1875	T2	1	Non metastasis	IIIB	Lanjut lokal	Adenocarcinoma
11	35	At	36	18,2500	T4	0	Non metastasis	IIIB	Lanjut lokal	Adenocarcinoma
12	36	Hm	45	22,6875	T2	0	Non metastasis	IIA	Dini	Invasive ductal carcinoma
13	40	An	42	13,0625	T3	0	Non metastasis	IIA	Dini	Adenocarcinoma
14	41	Mr	48	18,1875	T4	0	Non metastasis	IIIB	Lanjut lokal	Adenocarcinoma
15	42	Ad	34	29,3125	T4	0	Non metastasis	IIIB	Lanjut lokal	Adenocarcinoma
16	43	Nd	46	16,8125	T0	0	Non metastasis	IIB	Dini	Carcinoma mammae
17	45	Jr	41	19,68	T0	0	Non	IIB	Dini	Adenocarcinoma

7				75	2	metastasi	A		
1						s			
8	47	Hs	42	13,06	T	Non	I		Invasive ductal
				25	1	metastasi	A	Dini	carcinoma
1						s			
9	48	Sk	42	16,12	T	Non	II		Invasive ductal
				50	2	metastasi	A	Dini	carcinoma
1						s			
2						Non	II		
0	30	D	58	13,50	T	metastasi	A	Dini	Adenocarcinoma
		m		00	2	s			
2						Non	III		
1	55	Isy	55	23,62	T	metastasi	B	Lanjut lokal	Carcinoma
				50	4	s			mammae
2						Non	II		
2	60	Nr	52	19,56	T	metastasi	B	Dini	Adenocarcinoma
				25	3	s			
2						Non	III		
3	61	Gw	48	18,25	T	metastasi	B	Lanjut lokal	Adenocarcinoma
				00	4	s			
2						Non	II		
4	62	Nw	62	18,06	T	metastasi	B	Dini	Carcinoma
				25	3	s			mammae
2						Non	II		
5	33	Nb	50	14,43	T	metastasi	A	Dini	Adenocarcinoma
				75	2	s			
2						Non	III		
6	66	HI	68	21,75	T	metastasi	B	Lanjut lokal	Invasive ductal
				00	4	s			carcinoma
2						Non	III		
7	01	Mt	42	19,93	T	metastasi	C	Lanjut lokal	Adenocarcinoma
				75	4	s			
2						Non	III		
8	02	Ir	42	12,12	T	metastasi	A	Lanjut lokal	Invasive ductal
				50	3	s			carcinoma
2						Non	III		
9	03	Hb	38	23,93	T	metastasi	B	Lanjut lokal	Carcinoma
				75	4	s			mammae
3						Non	III		
0	05	Mb	33	22,81	T	metastasi	C	Lanjut lokal	Adenocarcinoma
				25	4	s			
3						Non	III		
1	08	Hk	46	18,62	T	metastasi	B	Lanjut lokal	Invasive ductal
				50	4	s			carcinoma
3						Non	III		
2	09	Sn	33	18,62	T	metastasi	B	Lanjut lokal	Carcinoma
				50	4	s			mammae
3						Non	III		
3	11	Nh	53	13,12	T	metastasi	A	Lanjut lokal	Invasive ductal
				50	4	s			carcinoma
3						Non	III		
4	13	Rt	42	14,12	T	metastasi	B	Lanjut lokal	Adenocarcinoma
				50	4	s			
3						Non	III		
4	27	Is	41	20,00	T	metastasi	B	Lanjut lokal	Invasive ductal
				00	1	s			carcinoma

36	32	Td	36	14,3750	T4	1	Non metastasis	III B	Lanjut lokal	Invasive ductal carcinoma
37	37	shr	47	21,2500	T4	1	Non metastasis	III B	Lanjut lokal	Adenocarcinoma
38	38	Nrs	39	19,7500	T4	3	Non metastasis	III C	Lanjut lokal	Invasive ductal carcinoma
39	44	Ht	67	19,0000	T4	3	Non metastasis	III C	Lanjut lokal	Invasive ductal carcinoma
40	56	Sb	49	11,8750	T4	3	Non metastasis	III C	Lanjut lokal	Invasive ductal carcinoma
41	67	Snt	34	16,6875	T4	3	Non metastasis	III C	Lanjut lokal	Adenocarcinoma
42	63	Nhy	34	12,8750	T3	1	Non metastasis	III A	Lanjut lokal	Adenocarcinoma
43	23	Sg	41	14,9375	T4	1	Non metastasis	III B	Lanjut lokal	Invasive ductal carcinoma
44	17	Rs	33	14,3750	T2	2	Non metastasis	III A	Lanjut lokal	Adenocarcinoma
45	21	Au	31	18,8750	T4	0	Metastasis	IV	Lanjut Metastasis	Carcinoma mammae
46	04	Er	34	21,3750	T4	1	Metastasis	IV	Lanjut Metastasis	Invasive ductal carcinoma
47	14	Elz	46	13,1875	T4	3	Metastasis	IV	Lanjut Metastasis	Invasive ductal carcinoma
48	16	Hrn	48	18,4375	T4	3	Metastasis	IV	Lanjut Metastasis	Carcinoma mammae
49	25	Hsm	34	16,1875	T4	2	Metastasis	IV	Lanjut Metastasis	Carcinoma mammae
50	26	Hsn	41	29,0000	T4	0	Metastasis	IV	Lanjut Metastasis	Invasive ductal carcinoma
51	39	Km	66	18,1250	T4	1	Metastasis	IV	Lanjut Metastasis	Carcinoma mammae
52	50	Jh	53	21,2500	T4	3	Metastasis	IV	Lanjut Metastasis	Invasive ductal carcinoma
53	58	Ksm	48	17,5000	T4	2	Metastasis	IV	Lanjut Metastasis	Adenocarcinoma
54	57	Jhu	64	25,7500	T4	0	Metastasis	IV	Lanjut Metastasis	Invasive ductal carcinoma
55	59	Msy	39	24,9375	T4	1	Metastasis	IV	Lanjut Metastasis	Invasive ductal carcinoma
56	31	Hnw	31	17,5000	T4	2	Metastasis	IV	Lanjut Metastasis	Carcinoma mammae

Lampiran 2.

**FORMULIR PERSETUJUAN SETELAH PENJELASAN
(Informed Consent)**

Saya yang bertandatangan dibawah ini :

Nama :
Umur /Kelamin :
Alamat :
Bukti diri/KTP :

Dengan ini menyatakan dengan sesungguhnya serta memberikan persetujuan dan bersedia menjalani/mengikuti penelitian mengenai analisis kadar matrix metalloproteinase-2 pada penderita kanker payudara yang telah mengalami penyebaran dan yang belum menyebar, setelah mendapat penjelasan dari peneliti (dokter) dan mengerti sepenuhnya tentang prosedur penelitian yang akan dilakukan.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan penuh kesadaran dan tanpa paksaan dari pihak manapun.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan penuh kesadaran dan tanpa paksaan dari pihak manapun.

Saksi-saksi
Tanda tangan :

Tanggal,
Yang membuat pernyataan,

1.

(.....)

(.....)

2.

(.....)

Tempat meminta penjelasan :

Pejabat Peneliti
Merawat)

Pejabat Medis (Dokter Yang

Nama : dr. Besse Rosmiati
Alamat (RS) : Bagian patologi klinik FK UNHAS
Jl. Perintis Kemerdekaan KM 10. Makassar
Telepon : 081341509332

Penanggung Jawab Medis : dr. William Hamdani,Sp.B(K)Onk
Alamat (RS) : Bagian Bedah Onkologi RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo
Jl. Perintis Kemerdekaan KM 10 Makassar
Telp : 08124229793

DISETUJUI OLEH KOMISI PENELITIAN KESEHATAN FAK. KEDOKTERAN UNHAS TGL.....

Lampiran 3.

DATA DASAR PENELITIAN

No	Nama	Umur	Kadar MMP2 (ng/mL)	TNM			Stadium		Histopatologi
				T	N	M	TN M	Kategori Stadium	
1	N.A m	36	23,6250	T3	0	Non metastasis	II A	Dini	Adenocarcinoma
2	Ht	43	18,3750	T4	0	Non metastasis	III B	Lanjut lokal	Adenocarcinoma
3	Hn	51	12,9375	T4	0	Non metastasis	III B	Lanjut lokal	Adenocarcinoma
4	Hr	43	12,1875	T4	0	Non metastasis	III B	Lanjut lokal	Invasive ductal carcinoma
5	Cy	58	11,1875	T4	0	Non metastasis	III B	Lanjut lokal	Adenocarcinoma
6	Bs	38	18,0625	T1	0	Non metastasis	I A	Dini	Carcinoma mammae
7	Rd	49	18,1875	T4	0	Non metastasis	III B	Lanjut lokal	Carcinoma mammae
8	Nt	38	17,3750	T3	0	Non metastasis	II B	Dini	Carcinoma mammae
9	Am	45	13,3125	T2	0	Non metastasis	II B	Dini	Invasive ductal carcinoma
10	Eb	42	16,1875	T2	1	Non metastasis	III B	Lanjut lokal	Adenocarcinoma
11	At	36	18,2500	T4	0	Non metastasis	III B	Lanjut lokal	Adenocarcinoma
12	Hm	45	22,6875	T2	0	Non metastasis	II A	Dini	Invasive ductal carcinoma
13	An	42	13,0625	T3	0	Non metastasis	II A	Dini	Adenocarcinoma
14	Mr	48	18,1875	T4	0	Non metastasis	III B	Lanjut lokal	Adenocarcinoma
15	Ad	34	29,3125	T4	0	Non metastasis	III B	Lanjut lokal	Adenocarcinoma

16	Nd	46	16,812 5	T 3	0	Non metastasis	II B	Dini	Carcinoma mammae
17	Jr	41	19,687 5	T 2	0	Non metastasis	II A	Dini	Adenocarcinoma
18	Hs	42	13,062 5	T 1	0	Non metastasis	I A	Dini	Invasive ductal carcinoma
19	Sk	42	16,125 0	T 2	0	Non metastasis	II A	Dini	Invasive ductal carcinoma
20	Dm	58	13,500 0	T 2	0	Non metastasis	II A	Dini	Adenocarcinoma
21	Isy	55	23,625 0	T 4	0	Non metastasis	III B	Lanjut lokal	Carcinoma mammae
22	Nr	52	19,562 5	T 3	0	Non metastasis	II B	Dini	Adenocarcinoma
23	Gw	48	18,250 0	T 4	0	Non metastasis	III B	Lanjut lokal	Adenocarcinoma
24	Nw	62	18,062 5	T 3	0	Non metastasis	II B	Dini	Carcinoma mammae
25	Nb	50	14,437 5	T 2	0	Non metastasis	II A	Dini	Adenocarcinoma
26	HI	68	21,750 0	T 4	0	Non metastasis	III B	Lanjut lokal	Invasive ductal carcinoma
27	Mt	42	19,937 5	T 4	2	Non metastasis	III C	Lanjut lokal	Adenocarcinoma
28	lr	42	12,125 0	T 3	1	Non metastasis	III A	Lanjut lokal	Invasive ductal carcinoma
29	Hb	38	23,937 5	T 4	1	Non metastasis	III B	Lanjut lokal	Carcinoma mammae
30	Mb	33	22,812 5	T 4	3	Non metastasis	III C	Lanjut lokal	Adenocarcinoma
31	Hk	46	18,625 0	T 4	2	Non metastasis	III B	Lanjut lokal	Invasive ductal carcinoma
32	Sn	33	18,625 0	T 4	2	Non metastasis	III B	Lanjut lokal	Carcinoma mammae

33	Nh	53	13,125 0	T 4	2	Non metastasis	III A	Lanjut lokal	Invasive ductal carcinoma
34	Rt	42	14,125 0	T 4	2	Non metastasis	III B	Lanjut lokal	Adenocarcinoma
35	Is	41	20,000 0	T 4	1	Non metastasis	III B	Lanjut lokal	Invasive ductal carcinoma
36	Td	36	14,375 0	T 4	1	Non metastasis	III B	Lanjut lokal	Invasive ductal carcinoma
37	shr	47	21,250 0	T 4	1	Non metastasis	III B	Lanjut lokal	Adenocarcinoma
38	Nrs	39	19,750 0	T 4	3	Non metastasis	III C	Lanjut lokal	Invasive ductal carcinoma
39	Ht	67	19,000 0	T 4	3	Non metastasis	III C	Lanjut lokal	Invasive ductal carcinoma
40	Sb	49	11,875 0	T 4	3	Non metastasis	III C	Lanjut lokal	Invasive ductal carcinoma
41	Snt	34	16,687 5	T 4	3	Non metastasis	III C	Lanjut lokal	Adenocarcinoma
42	Nhy	34	12,875 0	T 3	1	Non metastasis	III A	Lanjut lokal	Adenocarcinoma
43	Sg	41	14,937 5	T 4	1	Non metastasis	III B	Lanjut lokal	Invasive ductal carcinoma
44	Rs	33	14,375 0	T 2	2	Non metastasis	III A	Lanjut lokal	Adenocarcinoma
45	Au	31	18,875 0	T 4	0	Metastasis	IV	Lanjut Metastasis	Carcinoma mammariae
46	Er	34	21,375 0	T 4	1	Metastasis	IV	Lanjut Metastasis	Invasive ductal carcinoma
47	Elz	46	13,187 5	T 4	3	Metastasis	IV	Lanjut Metastasis	Invasive ductal carcinoma
48	Hrn	48	18,437 5	T 4	3	Metastasis	IV	Lanjut Metastasis	Carcinoma mammariae
49	Hsm	34	16,187 5	T 4	2	Metastasis	IV	Lanjut Metastasis	Carcinoma mammariae

50	Hsn	41	29,000 0	T 4	0	Metastasis	IV	Lanjut Metastasis	Invasive ductal carcinoma
51	Km	66	18,125 0	T 4	1	Metastasis	IV	Lanjut Metastasis	Carcinoma mammarum
52	Jh	53	21,250 0	T 4	3	Metastasis	IV	Lanjut Metastasis	Invasive ductal carcinoma
53	Ksm	48	17,500 0	T 4	2	Metastasis	IV	Lanjut Metastasis	Adenocarcinoma
54	Jhu	64	25,750 0	T 4	0	Metastasis	IV	Lanjut Metastasis	Invasive ductal carcinoma
55	Msy	39	24,937 5	T 4	1	Metastasis	IV	Lanjut Metastasis	Invasive ductal carcinoma
56	Hnw	31	17,500 0	T 4	2	Metastasis	IV	Lanjut Metastasis	Carcinoma mammarum

Lampiran 4.

CURRICULUM VITAE

I. Data Pribadi

1. Nama Lengkap : Besse Rosmiati
2. NIP : 19750517 200212 2 007
3. Pangkat / Golongan : Penata/ III c
4. Jenis Kelamin : Perempuan
5. Agama : Islam
6. Tempat / Tanggal Lahir : Atapange, Wajo/ 17 Mei 1975
7. Alamat : Perumahan BTP Blok F No. 403
8. Institusi : Dinas Kesehatan Kabupaten Kolaka

II. Riwayat Pendidikan

1. SDN 318 Rumpia, Kab Wajo, lulus tahun 1987
2. SMPN 1 Majauleng, lulus tahun 1990
3. SMAN 1 Makassar, lulus tahun 1993
4. Sarjana Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar, lulus tahun 1998
5. Profesi Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar, lulus tahun 2000
6. Program Pasca Sarjana Universitas Hasanuddin Makassar, periode 1 Juli 2008

III. Riwayat Pekerjaan

1. Dokter PTT : Puskesmas Tosiba, Kabupaten Kolaka, SULTRA,
1 April 2001 – 30 November 2002
2. CPNS : Puskesmas Tosiba, Kabupaten Kolaka, SULTRA,
1 Desember 2002 – 31 Maret 2003
3. PNS : Puskesmas Tosiba, Kabupaten Kolaka, SULTRA,
1 April 2001 – 30 November 2002
:Puskesmas Lalombaa, Kabupaten Kolaka,
SULTRA, 1 Desember 2002 – sekarang

IV. Karya Ilmiah / Artikel yang telah dipublikasikan

1. Hitung Jumlah Bakteri Aerob di Ruang Perawatan Bedah RSUP
dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar
(Dipresentasikan di Konferensi Kerja VI & Pertemuan Ilmiah
Tahunan Nasional VIII Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi
Klinik Indonesia, Balikpapan, 30 Oktober 2009).
2. Analisis Mean Platelet Volume pada Penderita Strok Iskemia Akut
(Dalam proses akan diterbitkan di *Indonesian Journal of Clinical
Pathology and Medical Laboratory (IJCP&ML)* di Vol.19 No. 01,
November Tahun 2012).

DAFTAR PUSTAKA

- Amalinei, C., Caruntu, I.D., Giusca, S.E., Balan, R.A. 2010. Matrix Metalloproteinase Involvement in Pathologic Conditions. *Romanian Journal of Morphology and Embryology*. 51(2):215-228.
- American Cancer Society.: Cancer Facts and Figures 2011. Available at: www.cancer.gov. Accessed on July 27, 2011.
- American Cancer Society. 2010. Breast Cancer. Available at: www.cancer.org. Accessed on July 27, 2011.
- Azamris. 2006. Analisis Faktor Risiko pada Pasien Kanker Payudara di Rumah Sakit Dr. M. Djamil Padang. *Cermin Dunia Kedokteran* No. 152
- Balnd, K.I., Beenken, S.W., Copeland, E.M. 2005. *The Breast. Schwatz's Principles of Surgery*. 8th edition. McGraw-Hill.
- Cancer Research UK. Breast Cancer-UK. Available at: <http://info.cancerresearchuk.org/>. Last update: May 2009.
- Carey, L.A., Perou, C.M., Livasy, C.H. 2006. Race, Breast Cancer Subtypes, and Survival in the Carolina Breast Cancer Study. *JAMA*. 295: 2492-2502
- Casciato, D.A., Barry, B.L. 2004. *Manual of Clinical Oncology*. 5th ed. Lippincott Williams & Wilkins. USA. 201.
- Chen S.M., Chen, H.S., Eng, H.L., Sheen, C.C., Chen, W.J. 2001. Serum Levels of Matrix Metalloproteinase 2 in Patients with Breast Cancer. *Cancer Lett*. 173(1): 79-82.
- Corwin, E.J., 2001. Kanker. *Buku Saku Patofisiologi*. EGC. Jakarta: 86
- Crum, C.P., Lester, S.C., Cotran, R.S. 2007. Sistem genitalia perempuan dan payudara. Kumar, Cotran and robbins SL eds. *Buku Ajar patologi*. Edisi 7. Volume 2. EGC. 793-801.
- Davey, P. 2005. Kanker Payudara. *At a Glance Medicine*. Erlangga. Jakarta. 173-174.

- Decock, J., Paridaens, R., Ye, S. 2008. Genetic Polymorphisms of Matrix Metalloproteinases in Lung, Breast and Colorectal Cancer. *Clin Genet.* 73:197-221.
- Desen, W., Japaries, W. 2011. Tumor Daerah Toraks. *Buku Ajar Onkologi Klinik*. Edisi 2. Balai Penerbit FKUI. Jakarta.
- Dixon, J. Breast Cancer Update. 2005.
- Economist Intelligence Unit. 2009. Breakaway: The Global Burden of Cancer-Challenges and Opportunities. Available at: <http://livestrongblog.org/>. Accessed on Desember 15, 2011.
- Eroschenko, V.P. 2003. Kelenjar Mammariae. *Atlas Histologi di Fioere dengan Korelasi Fungsional*. Edisi 9. EGC. Jakarta. 327-329
- Fan, S.Q., Wei, Q.Y., Li, M.R., Zhang, L.Q., 2003. Expression and Clinical Significance of MMP-2, MMP-9, TIMP-1 and TIMP-2 in Breast Carcinoma. *Ai Zheng.* 22(9):968-973.
- Feight, B.W., Berger, D.H., Fuhrman, G.M. 2006. The M.D. Anderson Surgical Oncology Handbook. 4st edition. Lippincott William & Wilkins. Philadelphia.
- Garbett, E.A., Reed, M.W., Stephenson, T.J., Brown, N.J. 2000. Proteolysis in Human Breast Cancer. *Mol Pathol.* 53(2):99-106.
- Greene, F.L., Page, D.L., Fleming, I.D., Fritz A., Balch, C.M., Haller, D.G., Morrow, M. 2002. *AJCC Cancer Staging Manual*. Sixth Ed. Springer. Philadelphia. 225-230.
- Hayes, D.F. 2000. Atlas of Breast Cancer. 2nd edition. Morsby-Wolfe Medical Communications. England.
- Heffner, L.J., Schust, DJ. 2005. *At a Glance: Sistem Reproduksi*. Edisi Kedua. Jakarta: Erlangga Medical Series.
- Hemati, S., Sadeghi, M., Motovali-Bashi, M., Sahebi, A., Malekshahi, Z.V. 2010. Higher plasma MMP-9 level in breast cancer patients with MMP-9 promoter T allele. *J. Biol. Res.-Thessalon.* 13: 113 – 118.
- Hukom, R.A. 2003. Risiko Kanker Payudara ditinjau dari Segi Epidemiologi. Penatalaksanaan Kanker Payudara Terkini. (Tim Penanggulangan & Pelayanan Kanker Payudara Terpadu Paripurna R.S. Kanker Dharmais). Jakarta; Pustaka Populer Obor: 1-9

- Hunt, K.K., Rob, G.L., Strom, E.A., Ueno, N.T., Buzdar, A.U., Freedman, R.S. 2008. *Breast Cancer*. Second Edition. Springer. Philadelphia. P: 1-18.
- Incorvaia, L., Badalamentin, G., Rini, G., Arcara C., Fricano, S., Sferrazza, C., Trapani, D., Gebbia, N., Leto, G. 2007. MMP-2, MMP-9 and Activin A Blood Levels in Patients with Breast Cancer or Prostate Cancer Metastatic to the Bone. *Anticancer Research*. 27:1519-1526
- Jatoi, I., Kaufmann M., Petit, J.W. 2006. Atlas of Breast Surgery. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Germany. 7-22.
- Jemal, A., Bray, F., Melissa, M., Ferlay, J., Ward, E., Forman, D. 2011. Global Cancer Statistics. *CA CANCER J CLIN*. 61:69–90.
- Jordan, M. 2003. *Managing Breast Cancer Risk*. BC Decker Inc. New York. 3-15.
- Kargozaran, H., Yuan, S.Y., Breslin, J.W., Watson, K.D., Gaudreault, N., Breen, A., Wu, M.H. 2007. A Role for Endothelial-Derived Matrix Metalloproteinase-2 in Breast Cancer Cell Transmigration Across The Endothelial-Basement Membrane Barrier. *Clin Exp Metastasis*. 24:495-502.
- Kersten, K. 2011. Predicting Breast Cancer Metastasis; Formation of the Pre-metastatic Niche. Available at: <http://igitur-archive.library.uu.nl/>. Accessed on Oct 30, 2011.
- Klein, G., Vellenga, E., Fraaije, M.W., Kamps, W.A., Bont, E.S. 2004. The Possible Role of Matrix Metalloproteinase (MMP)-2 and MMP-9 in Cancer, e.g. Acute Leukemia. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. 50:87-100.
- Kresno, S.B. 2011. Angiogenesis dan Metastasis. *Ilmu Dasar Onkologi*. Edisi kedua. Badan Penerbit FKUI. Jakarta. 220-230.
- Kumar, V., Cotran, R.S., Robbins, S.L. 2007. Neoplasma. *Buku Ajar Patologi Robbins*. Edisi 7. EGC. Jakarta. 199-215.
- Kurnia, A., Ramli, H.M., Albar, Z.A. Prediksi, Intervensi dan Prevalensi Kanker Payudara. *Kanker Kepala, Leher, Payudara dan Rekonstruksi*. Balai Penerbit FKUI. Jakarta. 216-229

- Lamadjido, R.A., Pakasi, R.D., Hardjoeno. 2003. Tumor Marker. *Interpretasi Hasil Tes Laboratorium Diagnostik*. Lembaga Penerbitan Universitas Hasanuddin. Makassar. 421-423.
- Lee, M.H., Murphy, G. 2004. Matrix Metalloproteinases at a Glance. *Journal of Cell Science*. 117: 4015-6.
- Leppa, S., Saarto, T., Vehmanen, L., Blomqvist, C., Elomaa, I. 2004. A High Serum Matrix Metalloproteinase-2 Level is Associated with an Adverse Prognosis in Node-Positive Breast Carcinoma. *Clinical Cancer Research*. Vol. 10: 1057-1063.
- Liu, S.C., Yang, S.F., Yeh, K.T., Yeh, C.M., Chiou, H.L. 2006. Relationships between The Level of Matrix Metalloproteinase-2 and Tumor Size of Breast Cancer. *Clinica Chimica Acta*. 371(1-2): 92-96
- Martin, R.F., Newman, L.A. 2007. Breast Cancer Surgical Clinics of North America. Saunders. Philadelphia.
- Milosevic, Z., Gajic, D.M., Stevanovic, J. 2006. Diagnostic Imaging Methods in Metastatic Disease. *Archieve of Oncology*. 14 suppl 1:73-74.
- Morgunova, E., Tuuttila, A., Isupov, M., Bergmann, U., Linqvist, Y., Schneider, G., Tryggvason, K. 1999. Structure of Human pro-Matrix Metalloproteinase-2: Activation Mechanism Revealed. *Science*. 284:1667-1669.
- Nagase, H., Woessner, J.F. 1999. Matrix Metalloproteinase. *The Journal of Biological Chemistry*. 274(31):21491-21494.
- Nussebaum, F., Herman, I.M. 2010. Tumor Angiogenesis: Insights and Innovations. *J Oncol*.
- National Comprehensive Cancer Network. 2008. Breast Cancer. Online at www.Nccn.org. Accessed on Desember 15, 2011
- Pellikainen, J.M., Ropponen, K.M., Kataja, V.V., Kellokoski, J.K., Eskelinen, M.J., Kosma, V.M. 2004. Expression of Matrix Metalloproteinase (MMP)-2 and MMP-9 in Breast Cancer with a Special Reference to Activator Protein-2, HER2, and Prognosis. *Clinical Cancer Research*. 10:7621-7628.

- Prosnitz, L.R., Iglehart, J.D., Winer, E.O. 2001. Breast Cancer. In: Rubin P and Williams JP eds. *Clinical Oncology A Multidisciplinary Approach for Physician and Students*. Saunders Company Philadelphia.
- Quaia, E., D'Onofrio, M. Palumbo, A. 2006. Comparison of Contrast-Enhanced Ultrasonography Versus Baseline Ultrasound and Contrast-Enhanced Computed Tomography in Metastatic Disease of The Liver: Diagnostic Performance and Confidence. *Eur Radiol*. 16:1599-1609.
- [Quaranta](#), M., [Daniele](#), A., [Coviello](#), M., Venneri, M.T., Abbate, I., Caringella, M.A., Tardo, S.Di., Divella, R., Tretoli, P., Gennaro, M.Di., Schittulli, F., Fransvea, E., Gianella, G. 2007. MMP-2, MMP-9, VEGF and CA 15.3 in Breast Cancer. *Anticancer Res*. 27: 3593-3600
- Rasjidi, I. 2010. Kanker Payudara. *100 Question & Answer Kanker pada Wanita*. PT Gramedia. Jakarta. 17-35.
- Rundhaug, J.E. 2003. Matrix metalloproteinase, Angiogenesis and Cancer. *Clinicancerres*. 9: 551-554.
- Sahani, D.V., Kalva, S.P. 2004. Imaging The Liver. *The Oncologist*. 9: 385-397.
- Schwartz, S.I. 2000. *Intisari Prinsip-prinsip Ilmu Bedah*. EGC. Jakarta. 227-230.
- Scottish Intercollegiate Guidelines Network. 2005. Management of Breast Cancer in Women: A National Clinical Guidelines. Available at: www.sign.ac.uk. Accessed on September 27, 2011.
- Sengupta, N., MacDonald, T.T. 2007. The Role of Matrix Metalloproteinases in Stromal/Epithelial Interactions in the Gut. *Physiology* 22:401-409.
- Sevianty, S. 2011. Analisis Nilai 5-Hydroxyindoleacetic Acid (5-HIAA) pada Penderita Carcinoma Mammae.
- Somiari, S.B., Somiari, R.I., Heckman, C.M, Olsen, C.H., Jordan, R.M., Russel, S.J., Shriver, C.D. 2006. Circulating MMP2 and MMP9 in breast cancer—Potential role in classification of patients into low risk, high risk, benign disease and breast cancer categories. *IJC*. 119: 1403-1411.

- Spicer, D.V., Pike, M.C. 2005. Risk Factor for Development of Breast Cancer. *Roses DF Breast Cancer*. 2nd edition. Elsevier Churchill Livingstone. Philadelphia.
- Subarkah, A., 2008. Kanker Payudara. Diunduh pada: www.klinikindonesia.com. Diakses 9 Agustus 2011.
- Swain, S.M. 2006. *Inflammatory Breast Cancer*. IOS Press. 25-30.
- Szmitko, P.E., Wang, C.H., Weisel, R.D., Jeffries, G.A., Anderson, T.J., Verma, S. 2003. Biomarkers of Vascular Disease Linking Inflammation to Endothelial Activation. Part II. *Circulation*. 108: 2041-2048.
- Tjindarbumi, D. 2000. Deteksi Dini Kanker Payudara dan Penanggulangannya. *Deteksi Dini Kanker*. Balai Penerbit FKUI. Jakarta: 32-43
- Valentina, L. 2007. *Aplikasi Klinis Patofisiologi: Pemeriksaan dan Manajemen*. EGC. Jakarta. 127-132
- Vasala, K. 2008. Matrix Metalloproteinase MMP-2 and MMP-9 and Their Inhibitors TIMP-1 and TIMP-2 in Bladder Carcinoma. *ACTA University of Oulu*.
- Whatling, C., McPheat, W., Camejo, H.E. 2004. Matrix Management Assigning Different Roles for MMP-2 and MMP-9 in Vascular Remodelling. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 24: 10-11.
- World Health Organization. World Cancer Day 2011. Available at: www.who.int. Last update: 4 February 2011-08-12.
- Wulandari, D. 2007. Perkembangan Pemeriksaan Penanda Tumor Terkini pada Kanker Payudara. *Pendidikan Berkesinambungan Patologi Klinik*. Departemen Patologi Klinik FKUI. Jakarta. 134-146.

