

**KARYA AKHIR**

**HUBUNGAN EKSPRESI MATRIKS METALLOPROTEINASE-9  
(MMP-9) DENGAN KLINIKOPATOLOGI PADA PASIEN  
KANKER KOLOREKTAL**

*RELATIONSHIP BETWEEN METALLOPROTEINASE-9 (MMP-9)  
EXPRESSION AND CLINICOPATHOLOGY IN  
COLORECTAL CANCER PATIENTS*

**MUDATSIR**

**C028202001**



**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SUBSPELIALIS (Sp-2)  
DEPARTEMEN ILMU BEDAH  
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR**

**2022**

**KARYA AKHIR**

**HUBUNGAN EKSPRESI MATRIKS METALLOPROTEINASE-9  
(MMP-9) DENGAN KLINIKOPATOLOGI PADA PASIEN  
KANKER KOLOREKTAL**

***RELATIONSHIP BETWEEN METALLOPROTEINASE-9 (MMP-9)  
EXPRESSION AND CLINICOPATHOLOGY IN COLORECTAL CANCER  
PATIENTS***

Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar Dokter Subspesialis  
Bedah Digestif (Konsultan)  
Program Studi Subspesialis (Sp-2) Ilmu Bedah

Disusun dan diajukan oleh

**MUDATSIR  
C028202001**

Kepada

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SUBSPESIALIS (Sp-2)  
DEPARTEMEN ILMU BEDAH  
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR**

**2022**

**LEMBAR PENGESAHAN TESIS**

**HUBUNGAN EKSPRESI MATRIKS METALLOPROTEINASE-9 (MMP-9)  
DENGAN KLINIKOPATOLOGI PADA PASIEN KANKER KOLOREKTAL**

Disusun dan diajukan oleh

**Mudatsir**  
C028202001

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian  
yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi  
Program Pendidikan Dokter Spesialis-2 Ilmu Bedah  
Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin  
pada tanggal 24 Agustus 2022  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

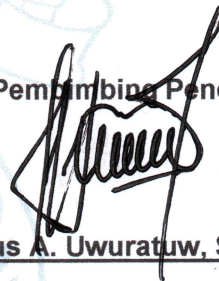
Menyetujui

Pembimbing Utama



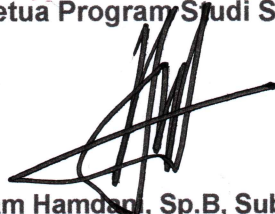
Dr. dr. Ibrahim Labeda, Sp.B, Subsp. BD(K)  
NIP. 195909211988031006

Pembimbing Pendamping



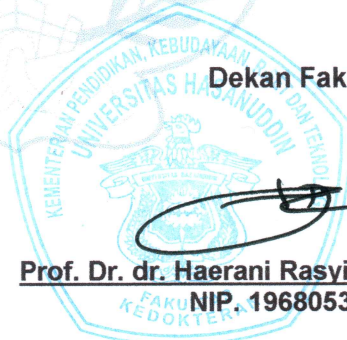
dr. Julianus A. Uwuratuw, Sp.B, Subsp. BD(K)

Ketua Program Studi SP-2



Dr. dr. William Hamdan, Sp.B, Subsp. Onk(K)  
NIP. 19580309 198603 1 001

Dekan Fakultas Kedokteran



Prof. Dr. dr. Haerani Rasyid, M.Kes, Sp.PD-KGH, Sp.GK  
NIP. 19680530 199603 2 001

## PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR

Yang bertanda tang di bawah ini :

Nama : Mudatsir

NIM : C028202001

Program Studi : Program Pendidikan Dokter Subspesialis (Sp-2)

Judul :

### HUBUNGAN EKSPRESI MATRIKS METALLOPROTEINASE-9 (MMP-9) DENGAN KLINIKOPATOLOGI PADA PASIEN KANKER KOLOREKTAL

dengan ini menyatakan dengan sebenarnya bahwa karya akhir yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan karya akhir ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 30 November 2022

Yang menyatakan,



Mudatsir

## **KATA PENGANTAR**

Puji syukur saya panjatkan kepada Allah SWT atas karunia dan kemurahan-Nya sehingga saya dapat menyelesaikan karya akhir ini sebagai salah satu prasyarat dalam Program Pendidikan Dokter Subspesialis (Sp-2) Ilmu Bedah di Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, Makassar.

Saya menyadari banyak hambatan dan tantangan yang saya hadapi selama menyusun karya akhir ini. Namun, saya bisa menyelesaikan karya akhir ini berkat motivasi, dukungan, dan masukan yang diberikan pembimbing saya, Dr. dr. Ibrahim Labeda, Sp. B, Subsp. BD (K), dr. Julianus A. Uwuratuw, Sp. B, Subsp. BD (K), dan dr. Joko Hendarto, M.Biomed, Ph. D, serta kepada para penguji, Dr.dr. Warsinggih, Sp. B, Subsp. BD (K), M. Kes dan dr. Erwin Syarifuddin, Sp. B, Subsp. BD (K). Pada kesempatan ini, saya menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M. Sc selaku Rektor Universitas Hasanuddin, Dr. dr. A. Muhammad Takdir Musba, Sp.An, KMN-FIPM selaku Manajer PPDS Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, Prof. Dr. dr. Haerani Rasyid, M.Kes, Sp.PD-KGH, Sp.GK sebagai Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, dr. Agussalim Bukhari, M. Clin.Med., Ph.D., Sp.GK sebagai Wakil Dekan Bidang Akademik, Riset dan Inovasi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, serta Prof. Dr. dr. Andi Asadul Islam, Sp.BS(K) dan Prof. dr. Budu, Ph-D, SP.M(K), M. MedEd saat menjabat sebagai Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, yang telah memberi kesempatan kepada saya untuk dapat mengikuti Program Pendidikan Dokter Subspesialis (Sp-2) Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.

Saya juga mengucapkan terima kasih dan penghargaan sebesar-besarnya kepada Dr. dr. Prihantono, Sp. B, Subsp. Onk (K) selaku Kepala Departemen Ilmu Bedah Universitas Hasanuddin, Dr. dr. William Hamdani, Sp. B, Subsp. Onk (K) selaku Ketua Program Studi Program Pendidikan Dokter Subspesialis (Sp-2) Ilmu Bedah Universitas Hasanuddin, kepada Dr. dr. Warsinggih, SpB, Subsp. BD (K) selaku ketua Divisi Bedah Digestif, serta seluruh guru-guru saya; dr. Murny A. Rauf, Sp. B, Subsp. BD (K), dr. Sulaihi, Sp. B, Subsp. BD (K), Dr. dr. Ronald E.

Lusikooy, Sp. B, Subsp. BD (K), Dr. dr. Ibrahim Labeda, Sp. B, Subsp. BD (K), Dr.dr. Warsinggih, Sp. B, Subsp. BD (K), M. Kes, dr. Mappincara, Sp. B, Subsp. BD (K), dr. Samuel Sampetoding, Sp. B, Subsp. BD (K), MARS, dr. Muh. Iwan Dhani, Sp. B, Subsp. BD (K)(Alm), dr. M. Ihwan Kusuma, Sp. B, Subsp. BD (K), dr. Julianus A. Uwuratuw, Sp. B, Subsp. BD (K), dan dr. Erwin Syarifuddin, Sp. B, Subsp. BD (K). Ucapan yang sama saya sampaikan kepada guru-guru saya di Departemen Ilmu Bedah FK UNHAS yang dengan sabar mendidik, membimbing serta menanamkan ilmu, ketrampilan, rasa percaya diri, dan profesionalisme dalam diri saya sejak saya mulai pendidikan ini pada tanggal 1 Januari 2021.

Tidak lupa pula saya ingin menyampaikan ucapan terima-kasih kepada guru-guru saya di Pusat Pendidikan Gastro-Entero-Hepatologi yang telah memberikan ilmu dan keterampilan dalam hal endoskopi, juga dari Departemen Radiologi, Prof. Dr. dr. Bahtiar Murtala, Sp. Rad yang secara rutin dan ikhlas memberikan ilmu dalam bidang radio-diagnostik. Ucapan yang sama juga saya sampaikan kepada Ketua Kolegium Ilmu Bedah Digestif Indonesia Prof. DR. dr. Toar J.M. Lalisang, Sp. B, Subsp. BD(K) beserta seluruh jajarannya, serta Kepada Direksi dan jajaran pimpinan RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo, Makassar serta seluruh pimpinan rumah sakit jejaring yang terkait dengan proses pendidikan ini.

Saya tidak lupa mengucapkan terima kasih kepada seluruh staf Divisi Bedah Digestif Kak Yudith Natalia dan Kak Sherly serta seluruh staf Departemen Ilmu Bedah Universitas Hasanuddin, terutama staf Program Pendidikan Dokter Subspesialis Kak Muh. Irsan Ilham (Iccank) dan Kak Marlina Rajab (Lina) yang telah sangat membantu sehingga semua proses administrasi bisa berjalan dengan baik hingga selesai pendidikan.

Terima kasih kepada saudara seperjuangan saya Trainee Bedah periode 1 Januari 2021 dr. Arham Arsyad, Sp.B, M. Kes yang tanpa henti memotivasi dan mengingatkan untuk pantang menyerah dalam menyusun dan menyelesaikan karya akhir ini. Terima kasih atas dukungan dan bantuan dari senior saya yang sudah selesai ; dr. Felmond Limanu, Sp. B, Subsp. BD (K), dr. Tenriagi Malawat, Sp. B, Subsp. BD (K), dr. Sylvia Laura, Sp. B, Subsp. BD (K), dr. Liliyanto, Sp. B, Subsp. BD (K), dr. Agung Setiawan, Sp. B, Subsp. BD (K), dr. Suluh Darmadi, Sp. B,

Subsp. BD (K), dr. Ferdinandes, Sp. B, Subsp. BD (K), dr. Mulkyawan Bahrn, Sp. B, Subsp. BD (K), dr. Amir Fajar, Sp. B, Subsp. BD (K), maupun yang sedang menjalani Pendidikan ; dr. Devby Ulfandi, Sp. B, dr. Adrian P. Purba, Sp.B serta teman-teman residen bedah yang sudah selesai maupun yang sedang menjalani pendidikan, coass bedah, teman-teman paramedis yang terkait langsung maupun tidak langsung dengan proses pendidikan ini.

Terakhir dan teristimewa adalah ucapan terima-kasih kepada istri saya tercinta, Eka Desita Mustikawati, S. SiT, M. Kes dan anak saya : Raisah Khayrah Mudatsir dan Nadhirah Basagita Mudatsir dan orang tua saya : Bapak Drs. H. M. Nashir Mile dan ibu Hj. Nurfaidah, serta Bapak KRMH. Japto Soerjosoemarno, SH dan Ibu Retno Suciati, kepada saudara saya Muammar, S.Pd, Munawir, Sp.Pd, M. Pd, dan Munawar, SKM, M. Kes serta Bapak dan Ibu mertua yang telah memberikan dukungan lahir dan batin sehingga saya dapat menjalani pendidikan ini dengan baik sampai selesai.

Penulis juga menyampaikan terima kasih dan permohonan maaf kepada semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu-persatu, yang telah membantu dalam menyelesaikan karya akhir ini.

Saya senantiasa berdoa kepada Allah SWT untuk melimpahkan karunia dan kemurahan-Nya kepada semua pihak yang telah memberikan bantuan selama pendidikan, penelitian dan penyusunan karya akhir ini. Aamiin.

Makassar, 30 November 2022  
Yang menyatakan,



dr. Mudatsir, M. Ked (Surg), Sp. B

## ABSTRAK

MUDATSIR. *Hubungan Ekspresi Matriks Metalloproteinase-9 (MMP-9) dengan Klinikopatologi pada Pasien Kanker Kolorektal* (dibimbing oleh Ibrahim Labeda, Julianus A.Uwuratuw, Joko Hendarto, Warsinggih, Ronald E. Lusikooy).

Kanker kolorektal (KKR) adalah tumor ganas pada epitel kolon dan rektum. Berdasarkan data GLOBOCAN 2020 angka kejadian KKR di dunia adalah 10% dan seluruh kanker dan menempati urutan ketiga terbanyak dan seluruh kasus kanker. Di Indonesia angka kejadian KKR sebesar 8,6%, menempati urutan keempat terbanyak dari seluruh kasus kanker. Pada KKR, Matriks Metalloproteinase-9 (MMP-9) berperan penting dalam perkembangan dan progresi tumor. Peran prognostik ekspresi MMP-9 pada pasien KKR ditemukan bahwa ekspresi MMP-9 yang lebih tinggi memiliki kelangsungan hidup yang lebih buruk. Penelitian ini bertujuan mengetahui hubungan antara ekspresi MMP-9 dengan klinikopatologi pada pasien KKR. Penelitian ini merupakan penelitian observasional analitik dengan desain *cross sectional* yang dimulai dari bulan November 2021 sampai dengan Juni 2022 di RSUP Dr Wahidin Sudirohusodo dan RS Universitas Hasanuddin yang berlokasi di Kota Makassar Total 52 sampel pasien KKR yang masuk kriteria inklusi. Variabel klinikopatologi (usia, jenis kelamin, lokasi tumor, stadium kanker, jenis histopatologi, dan grading histopatologi) diambil dari rekam medik. Selanjutnya, ekspresi MMP-9 ditentukan melalui pemeriksaan imunohistokimia. Analisis statistik dilakukan dengan menggunakan program SPSS versi 27. Hasil penelitian menunjukkan bahwa 52 pasien pada penelitian ini, mayoritas berusia 50-59 tahun (34,6%), jenis kelamin laki-laki (69,2%), lokasi tumor primer di rektum (57,7%), berada pada stadium IV (34,6%), jenis histopatologi adenokarsinoma (82,7%), dan grading histopatologi *low grade* (61,5%). Dari seluruh variabel klinikopatologi tersebut, hanya variabel lokasi tumor primer ( $p=0,016$ ), stadium kanker ( $p=0,001$ ), dan grading histopatologi ( $p=0,049$ ) yang memiliki hubungan signifikan dengan ekspresi MMP-9. Kesimpulan terdapat hubungan signifikan antara ekspresi MMP-9 dengan lokasi tumor primer, stadium kanker, dan grading histopatologi dengan pada pasien KKR di Makassar. Tidak ada hubungan signifikan antara ekspresi MMP-9 dengan variabel klinikopatologik lain seperti usia, jenis kelamin, jenis histopatologi pada pasien KKR. Ekspresi MMP-9 dapat menjadi indikator yang berguna untuk penilaian klinis perilaku biologis tumor dan prognosis pada pasien KKR.

Kata kanker: kanker kolorektal, klinikopatologi, matriks metalloproteinase-9





## ABSTRACT

MUDATSIR. *Relationship between Metalloproteinase-9 (MMP-9) Expression and Clinicopathology in Colorectal Cancer Patients* (Supervised by Ibrahim Labeda, Julianus A. Uwuratuw, Joko Hendarto, Warsinggih, and Ronald E, Lusikooy).

Colorectal cancer (CRC) is a malignant tumor of the colon and rectum epithelium. Based on GLOBOCAN 2020 data the incidence of CRC in the world is 10% from all cancers, ranking the third most of all cancer cases. Moreover, the incidence of CRC in Indonesia is 8.6%, ranking the fourth most of all cancers cases. In the case of CRC, Matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) plays a role in tumor development and progression. The prognostic role of MMP-9 expression in CRC patients finds that CRC patients with higher MMP-9 expression has poorer survival. The aim of this study is to determine the relationship between MMP-9 expression and clinicopathology in CRC patients. This is an analytical observational study with a cross-sectional research design, conducted from November 2021 to June 2022 at Dr. Wahidin Sudirohusodo General Hospital and the Hasanuddin University hospital located in Makassar City. We included 52 patients diagnosed with CRC. The clinicopathological variables (age, gender, primary tumor location, cancer stage, histopathological type, and hispathological grading) were collected from medical records. Then, MMP-9 expression was examined using immunohistochemistry staining method. This statistical analysis was performed using the SPSS v.27 program. From 52 patients, majority aged 50-59 years (34.6%), male (69.2%), had primary tumor location in rectum (57.7%), cancer stage IV (34.6%), histopathology type adenocarcinoma (82.7%), low histology grade (61.5%). Analyzing all clinicopathology variables, only primary tumor location ( $p=0.016$ ), cancer stage ( $p=0.001$ ), and histopathology grade ( $p=0.049$ ), showed significant relationship with MMP-9 expression. There is a significant relationship between MMP-9 expression with primary tumor location, cancer staging, and hispathology grading in CRC patients in Makassar. This study shows there are no relationship between MMP-9 expression with other clinicopathological variable such as age, gender, hispathology type in CRC patients, MMP-9 expression can be a useful indicator for clinical assessment of tumor biologic behavior and prognosis in CRC patients.

Keywords: colorectal cancer, clinicopathological, matrix metalloproteinase-9



## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN PENGANTAR .....	ii
HALAMAN PENGESAHAN .....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR .....	iv
KATA PENGANTAR .....	v
ABSTRAK .....	viii
ABSTRACT .....	ix
DAFTAR ISI .....	x
DAFTAR TABEL .....	xiii
DAFTAR GAMBAR .....	xiv
BAB 1 PENDAHULUAN .....	1
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Rumusan Masalah .....	5
1.3. Tujuan Penelitian .....	5
1.3.1. Umum .....	5
1.3.2. Khusus .....	5
1.4. Manfaat Penelitian .....	6
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA .....	7
2.1. Anatomi dan Fisiologi Kolon dan Rektum .....	7
2.2. Kanker Kolorektal .....	8
2.2.1. Peran Faktor Risiko KKR dalam Patogenitasnya .....	9
2.2.2. Faktor Risiko yang tidak dapat Dimodifikasi .....	10
2.2.3. Faktor Risiko yang dapat Dimodifikasi .....	12
2.2.4. Deteksi Dini .....	15
2.2.5. Diagnosis .....	16
2.2.6. Sistem Stadium ( <i>Staging</i> ) .....	22
2.3 Matriks Metalloproteinase .....	25
2.3.1. Matriks Metalloproteinase dalam Proses Keganasan .....	29
2.3.2. Hubungan MMP-9 dengan Kanker Kolorektal .....	41

BAB 3 KERANGKA TEORI DAN KONSEP .....	43
3.1. Kerangka Teori .....	43
3.2. Kerangka Konsep .....	44
3.2. Hipotesis Penelitian .....	44
BAB 4 METODE PENELITIAN .....	45
4.1. Desain Penelitian .....	45
4.2. Waktu dan Lokasi Penelitian .....	45
4.3. Partisipan Penelitian .....	45
4.3.1. Populasi .....	45
4.3.2. Sampel .....	46
4.4. Kriteria Inklusi .....	47
4.5. Kriteria Eksklusi .....	47
4.6. Teknik Perhitungan Jumlah Sampel .....	47
4.7. Instrumen Penelitian .....	48
4.8. Variabel Penelitian .....	48
4.9. Definisi Operasional .....	49
4.10. Prosedur Penelitian .....	51
4.11. Pengumpulan Data .....	54
4.12. Pengolahan Data .....	56
4.13. Analisis Data .....	56
4.14. Etika Penelitian .....	56
4.15. Alur Penelitian .....	57
BAB 5 HASIL PENELITIAN .....	58
5.1. Karakteristik Sampel berdasarkan Usia .....	59
5.2. Karakteristik Sampel berdasarkan Jenis Kelamin .....	60
5.3. Karakteristik Sampel berdasarkan Lokasi Tumor Primer .....	61
5.4. Karakteristik Sampel berdasarkan Stadium Kanker .....	61
5.5. Karakteristik Sampel berdasarkan Jenis Histopatologi .....	62
5.6. Karakteristik Sampel berdasarkan Grading Histopatologi .....	63
5.7. Karakteristik Sampel berdasarkan Ekspresi MMP-9 .....	63

5.8. Hubungan Ekspresi MMP-9 dengan Klinikopatologi Pasien KKR.....	67
<b>BAB 6 PEMBAHASAN</b> .....	69
6.1. Analisis Hubungan Ekspresi MMP-9 dengan Usia.....	72
6.2. Analisis Hubungan Ekspresi MMP-9 dengan Jenis Kelamin .....	74
6.3. Analisis Hubungan Ekspresi MMP-9 dengan Lokasi Tumor Primer.....	76
6.4. Analisis Hubungan Ekspresi MMP-9 dengan Stadium Kanker .....	79
6.5. Analisis Hubungan Ekspresi MMP-9 dengan Jenis Histopatologi .....	82
6.6. Analisis Hubungan Ekspresi MMP-9 dengan Grading Histopatologi.....	84
<b>BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN</b> .....	87
7.1 Kesimpulan .....	87
7.2 Saran .....	87
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	89
<b>LAMPIRAN</b> .....	103

## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Perbandingan antar Metode Diagnostik .....	18
Tabel 2.2	Sistem stadium TNM pada kanker kolon dan rektum berdasarkan <i>American Joint Committee on Cancer</i> (AJCC) 2017: Tumor primer (T), Kelenjar Getah Bening (N), dan Metastasis (M) .....	23
Tabel 2.3	Penilaian Stadium berdasarkan TNM pada kanker kolon dan rektum berdasarkan <i>American Joint Committee on</i> <i>Cancer (AJCC) 2017</i> .....	24
Tabel 2.4	Group Matriks Metalloproteinase .....	27
Tabel 4.1	Definisi operasional penelitian .....	49
Tabel 5.1	Interpretasi ekspresi MMP-9 pada pemeriksaan histopatologi ..	65
Tabel 5.2	Analisis Hubungan Ekspresi MMP-9 dengan Klinikopatologi Pasien KKR menggunakan <i>Chi-Square test</i> .....	67

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Penyebaran Kanker Kolorektal .....	9
Gambar 2.2	Struktur MMP .....	26
Gambar 2.3	Peranan MMP dalam Progresitas, invasi , dan metastasis tumor .....	32
Gambar 2.4	Ilustrasi skema struktur domain dan motif MMP-9 .....	36
Gambar 2.5	Ilustrasi skematis tentang target MMP-9 di lingkungan ekstraseluler .....	38
Gambar 2.6	Ringkasan fungsi biologis MMP-9 dan beberapa proses terkait kanker melibatkan MMP-9 .....	39
Gambar 3.1	Kerangka teori .....	43
Gambar 3.2	Kerangka konsep .....	44
Gambar 4.1	Alur Penelitian .....	57
Gambar 5.1	Karakteristik Sampel berdasarkan Usia .....	60
Gambar 5.2	Karakteristik Sampel berdasarkan Jenis Kelamin .....	60
Gambar 5.3	Karakteristik Sampel berdasarkan Lokasi Tumor Primer .....	61
Gambar 5.4	Karakteristik Sampel berdasarkan Stadium Kanker .....	62
Gambar 5.5	Karakteristik Sampel berdasarkan Jenis Histopatologi .....	62
Gambar 5.6	Karakteristik Sampel berdasarkan Grading Histopatologi .....	63
Gambar 5.7	Karakteristik Sampel berdasarkan Ekspresi MMP-9 .....	64
Gambar 5.8	Gambaran Ekspresi MMP-9 Rendah .....	65
Gambar 5.9	Gambaran Ekspresi MMP-9 Sedang .....	66
Gambar 5.10	Gambaran Ekspresi MMP-9 Tinggi .....	66

# **BAB 1**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Definisi kanker kolorektal (KKR) menurut *World Health Organisation* (WHO) merupakan tumor ganas pada epitel kolon dan rektum. KKR digunakan sebagai istilah yang mencakup kanker kolon, peralihan rektosigmoid, dan rektum. Meskipun terdapat pengecualian, kanker kolon biasanya merupakan subkelompok terbesar dan dapat mencapai dua pertiga bagian pada *rectosigmoid junction* dan sepertiga rektum (*IARC*, 2019).

Menurut *database* WHO pada *GLOBOCAN* tahun 2020, ada sekitar 1.931.590 kasus KKR baru dan 915.607 kematian terkait KKR. Sekitar 70% kasus KKR merupakan kasus sporadis yang dipengaruhi oleh faktor lingkungan termasuk pola makan kebiasaan, aktivitas fisik, merokok dan konsumsi alkohol. Sekitar 25% dari kasus KKR memiliki kecenderungan genetik, dan 5% dari pasien KKR memiliki faktor keturunan yang terkait dengan perkembangannya. Riwayat keluarga KKR dan adanya kondisi kronis yang umum, seperti sindrom metabolik dan perlemakan hati adalah salah satu faktor kunci yang dilaporkan oleh literatur yang ada. Dalam laporan dari Proyek Pembaruan Berkelanjutan, aktif secara fisik, mengonsumsi gandum utuh, produk susu, makanan yang mengandung serat makanan dan mengonsumsi suplemen kalsium merupakan faktor yang dapat menurunkan risiko KKR. Sebaliknya, konsumsi daging merah atau olahan, konsumsi minuman beralkohol, kelebihan berat badan atau obesitas, dan tinggi

badan merupakan faktor yang dapat meningkatkan risiko KKR. (CS Wong, Ding, Wang, Cang, Huan. 2019).

*Survival rates* tertinggi untuk kasus KKR lebih dari 65% dilaporkan di Israel dan Korea Selatan, sementara India melaporkan prognosis terendah. Meskipun negara-negara yang lebih maju seperti Australia, Selandia Baru, Kanada, dan bagian Eropa melaporkan insiden KKR tertinggi, namun memiliki *survival rate* yang lebih baik (Allemani *et al.*, 2015). Studi yang dilakukan di Jepang pada tahun 2005 melaporkan *survival rate* dalam lima tahun sebesar 61,4% (Maajani, *et al.*, 2019). Di Malaysia, *Overall Survival* (OS) KKR dalam tiga tahun adalah 59,1% setelah diagnosis dan menurun menjadi 48,7% setelah 5 tahun sementara di wilayah Thailand dilaporkan kelangsungan hidup yang jauh lebih rendah pada 287 pasien KKR. (Hassan *et al.*, 2016).

Insiden KKR di Indonesia menurut data *GLOBOCAN* 2020 adalah 34.189 (8,6%) dari 396.914, dengan menempati urutan ke empat terbanyak dari seluruh kasus kanker, dimana angka kematian menempati urutan ke-8 pada kanker kolon dan ke-10 pada kanker rektum. Di Makassar berdasarkan data berbasis rumah sakit pada Divisi Ilmu Bedah Digestif Departemen Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin (FK UNHAS) Makassar, setiap tahun terjadi peningkatan kasus KKR. Pada tahun 2005 ditemukan sebanyak 39 kasus dan meningkat di tahun 2006 sebanyak 59 kasus, hingga pada tahun 2010 semakin meningkat sebanyak 124 kasus (Divisi Ilmu Bedah Digestif FK UNHAS- Makassar, 2011). Berdasarkan data yang diperoleh dari bagian Patologi Anatomi FK UNHAS, Makassar pada tahun 2006 tercatat 107 kasus KKR dan menempati urutan ke-3, tahun 2008 ditemukan



272 kasus KKR dan menempati urutan ke-2 setelah kanker payudara (Dharmaji & Lusikooy 2020).

Pada Seminar Nasional I Makassar Kanker Kolorektal tanggal 3 Juni 2011, dikumpulkan data dari 14 Pusat Pendidikan Ilmu Bedah Indonesia dari tahun 2005 – 2010, didapatkan jumlah kasus KKR sebanyak 4214 kasus dengan jenis kelamin laki-laki 55%, perempuan 45%, terbanyak dijumpai pada kelompok usia 41-60 tahun (48%), lokasi terbanyak pada rektum (61%), jenis histopatologi terbanyak adalah adenokarsinoma (88%), dan stadium terbanyak pada stadium Dukes' C (63%) (Dharmaji & Lusikooy 2020).

Matriks metaloproteinase (MMP) adalah *famili zinc dependent endopeptidase* merupakan barrier utama yang harus dilewati sel kanker untuk menimbulkan suatu metastasis. Sel kanker awalnya harus melewati membran basal epitel, kemudian sel kanker menginvasi ke stroma di sekitarnya. Setelah itu, sel kanker akan memasuki pembuluh darah atau limfatik dan ekstrasvasasi ke organ jauh untuk membuat proliferasi tumor yang baru (Deryugina, 2015). Proses metastasis ini didukung dengan munculnya dan sekresi beberapa enzim proteolisis yang akan mendegradasi beberapa komponen matriks ekstraseluler (Tahergorabi & Khazaei, 2012).

MMP saat ini banyak diteliti dan dipelajari karena sangat berhubungan dalam pertumbuhan dan perkembangan sel kanker. Peranan MMP berhubungan dengan regulasi sitokin, *growth factor*, dan *cell adhesion molecules*. Dimana jenis MMP-3, MMP-7, MMP-9 dan MMP-19 melepaskan IGF (*insulin-like growth factor*) yang menstimulasi proliferasi sel tumor. (Brown & Murray, 2015).

Matriks metaloproteinase-9 (MMP-9) merupakan anggota matriks metaloproteinase jenis *gelatinase* yang paling utama, yang disebut *gelatinase-B* atau 92 kDa *type IV collagenase*; dan memiliki kemampuan untuk menghancurkan kolagen tipe IV membrana basalis dan matriks ekstraseluler, yang sangat berperan pada invasi dan metastasis. (Farina, Mackay. 2014). Permukaan yang telah berikatan dengan MMP-9 akan mengaktifkan TGF-  $\beta$  yang berperan dalam invasi tumor dan angiogenesis (Brown & Murray, 2015).

Pada kasus KKR, MMP-9 berperan dalam perkembangan dan progresi tumor. Ekspresi MMP-9 lebih tinggi pada jaringan KKR dibandingkan pada jaringan normal. Peran prognostik ekspresi MMP-9 pada pasien KKR menemukan bahwa pasien KKR dengan ekspresi MMP-9 yang lebih tinggi memiliki kelangsungan hidup yang lebih buruk. MMP-9 memainkan peran penting dalam invasi dan metastasis serta sebagai indikator yang berguna untuk penilaian klinis perilaku biologis tumor dan prognosis pada pasien KKR. (Liang, 2017).

Selain pada kanker kolorektal saat ini inhibitor MMP-9 mulai banyak dikembangkan sebagai terapi anti metastasis kanker, dan ekspresinya meningkat pada berbagai jenis kanker seperti kanker payudara, kanker prostat, kanker nasofaring, kanker laring, dan karsinoma transisional kandung kemih. Namun, beberapa penelitian masih melaporkan hasil kontroversial mengenai hubungan MMP-9 dengan parameter klinis pada pasien KKR. (Zuzga, Gibbon., 2013). Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis hubungan ekspresi MMP-9 dengan klinikopatologi pada pasien KKR.

## **1.2 Rumusan masalah**

Apakah ada hubungan antara ekspresi MMP-9 dengan klinikopatologi pada pasien kanker kolorektal ?

## **1.3. Tujuan Penelitian**

### **1.3.1. Umum**

Mengetahui hubungan antara ekspresi MMP-9 dengan klinikopatologi pada pasien kanker kolorektal.

### **1.3.2. Khusus**

1. Mengetahui hubungan antara ekspresi MMP-9 dengan usia pada pasien kanker kolorektal di Makassar.
2. Mengetahui hubungan antara ekspresi MMP-9 dengan jenis kelamin pada pasien kanker kolorektal di Makassar.
3. Mengetahui hubungan antara ekspresi MMP-9 dengan lokasi tumor primer pada pasien kanker kolorektal di Makassar.
4. Mengetahui hubungan antara ekspresi MMP-9 dengan stadium kanker pada pasien kanker kolorektal di Makassar.
5. Mengetahui hubungan antara ekspresi MMP-9 dengan jenis histopatologi pada pasien kanker kolorektal di Makassar.
6. Mengetahui hubungan antara ekspresi MMP-9 dengan grading histopatologi pada pasien kanker kolorektal di Makassar.

#### **1.4. Manfaat Penelitian**

1. Pendidikan : Memberikan pengetahuan mengenai hubungan ekspresi MMP-9 dengan klinikopatologi pada pasien kanker kolorektal.
2. Penelitian : Memberikan informasi dan data yang dapat digunakan sebagai dasar penelitian selanjutnya tentang MMP-9.
3. Pelayanan : Dapat mengetahui hubungan ekspresi MMP-9 dengan klinikopatologi kanker kolorektal sehingga dapat dijadikan acuan pemeriksaan sebagai biomarker potensial untuk keperluan diagnosis dan prognosis pasien kanker kolorektal.

## **BAB 2**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Anatomi dan Fisiologi Kolon dan Rektum**

Usus besar (kolon) merupakan tabung muskuler berongga dengan panjang sekitar 1,5 meter yang terbentang dari sekum sampai kanalis analis, yang diameternya sekitar 6,5 cm tetapi makin dekat ke anus semakin mengecil. Usus besar dibagi menjadi sekum, kolon ascendens, kolon transversum, kolon desendens, sigmoid dan rektum. Kolon mempunyai empat lapisan morfologik yang terdiri dari tunika mukosa, submukosa, muskularis dan tunika serosa. (Kodner IJ, 2002).

Lapisan mukosa kolon mempunyai permukaan epitel yang datar sebagai pengganti vilus dan hanya tersusun dari kriptas. Sel-sel proliferasi dan sel prekursor kolon membentuk 2/3 dasar kriptas sedangkan sel-sel terdiferensiasi menyusun permukaan epitel dan 1/3 atas kriptas. Sel-sel dan sel progenitor pada kriptas terdiri dari sel enterosit, sel enteroendokrin dan sel goblet. Sel Paneth pada keadaan normal tidak ditemukan pada kolon dan membedakannya dengan usus halus yang menetap pada kriptas dan mengeluarkan bahan antibakteri. (Yamada Y, Mori H, 2006)

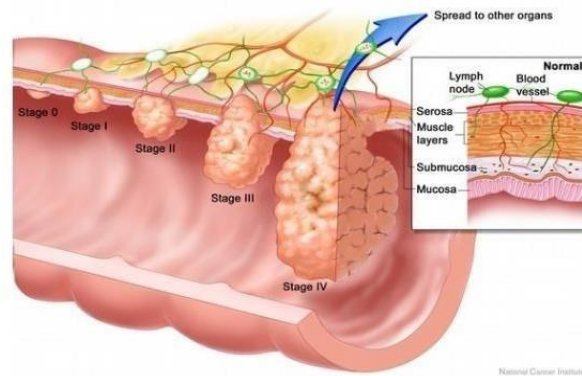
Secara embriologik kolon kanan berasal dari usus tengah dan kolon kiri sampai rektum berasal dari usus belakang. Midgut membentuk bagian distal duodenum sampai kolon transversum, sedangkan Hindgut membentuk kolon desendens sampai rektum. Aliran limfatik pada kolon sejalan dengan aliran darahnya. Hal ini penting diketahui sehubungan dengan penyebaran keganasan dan kepentingan dalam reseksi keganasan kolon. Sumber aliran limfatik terdapat pada

muskularis mukosa, jadi selama keganasan kolon belum mencapai muskularis mukosa kemungkinan besar belum ada metastasis. Misalnya pada metastasis kolon sigmoid ditemukan di kelenjar limfe regional mesenterium dan retroperitoneal pada arteri kolika sinistra, sedangkan dari anus ditemukan di kelenjar limfe regional inguinalis. (Kodner IJ, 2002).

Fungsi kolon ialah menyerap air, vitamin dan elektrolit, eksresi mukus, serta menyimpan faeses dan kemudian mendorongnya keluar. Dari 700-1000 ml cairan usus halus yang diterima oleh kolon, hanya 150-200 ml yang dikeluarkan sebagai feses setiap harinya. Udara masuk sewaktu makan, minum atau menelan ludah dalam bentuk O<sub>2</sub> dan CO<sub>2</sub> diserap oleh usus, sedangkan nitrogen bersama dengan gas sisa dari penyerapan tersebut dikeluarkan sebagai flatus. Jumlah gas dalam usus mencapai 500 ml sehari. (Kodner IJ, 2002)

## **2.2 Kanker Kolorektal**

Kanker kolorektal (KKR) adalah keganasan yang berasal dari jaringan usus besar, terdiri dari kolon (bagian terpanjang dari usus besar) dan atau rektum (bagian kecil terakhir dari usus besar sebelum anus). Gejala adanya tumor pada kolon biasanya ditandai dengan adanya polip yang memiliki risiko terbentuknya karsinoma. Sekitar 96% penyebab karsinoma kolorektal adalah adenokarsinoma yang berkembang dari jaringan kelenjar. (Hamza, 2017)



Gambar 2.1. Penyebaran Kanker Kolorektal (Hamza,2017)

Pada gambar di atas terlihat penyebaran karsinoma di kolon atau rektum. Pada saat stage 0 atau normal tidak ditemukan adanya karsinoma yang tumbuh pada kolon atau rektum. Karsinoma tumbuh di usus besar melalui lapisan dan menembus lapisan dinding usus besar atau rektum. Karsinoma yang telah menembus dinding juga dapat menembus darah atau kelenjar getah bening (*lymph node*), yang merupakan saluran tipis. Pada umumnya, sel-sel karsinoma pertama kali menyebar ke kelenjar getah bening di dekat sel karsinoma tersebut, kelenjar getah bening memiliki struktur seperti kacang yang membantu melawan infeksi. Sel-sel karsinoma itu dapat dibawa oleh pembuluh darah (*blood vessel*) ke hati, paru-paru, rongga perut, atau ovarium. Proses dimana sel-sel karsinoma menyebar ke organ lain melalui pembuluh darah disebut metastasis. (Hamza, 2017).

### 2.2.1 Peran Faktor Risiko KKR dalam Patogenitasnya

Terjadinya kanker kolon merupakan kombinasi dari faktor predisposisi genetik dan lingkungan. Faktor genetik berkontribusi pada sekitar 20% kasus. Poliposis adenomatosa familial merupakan sindrom predisposisi genetik utama,

kanker kolorektal *nonpolyposis hereditas*, dan jenis tumor lain dengan riwayat keluarga. Faktor lingkungan berkontribusi pada 80% kasus kanker kolorektal. Faktor tersebut termasuk diet rendah serat, sayuran, dan folat dan tinggi lemak, daging merah; konsumsi alkohol dalam jumlah banyak, pekerjaan menetap (kurangnya mobilitas), dan merokok. (Hamza, 2017)

Meskipun kanker kolorektal dapat muncul pada waktu dan mekanisme yang berbeda, kejadiannya dapat terjadi melalui perubahan epitel normal dari polip ke karsinoma. Dalam proses ini sejumlah perubahan genetik telah diteliti, termasuk inaktivasi gen penekan tumor dan aktivasi onkogen spesifik. Beberapa penelitian telah menunjukkan mutasi p53, *adenomatous polyposis coli* (APC), k-ras dan / atau perubahan protein seperti APC dan ketidakstabilan mikrosatelit DNA atau hilangnya heterozigositas. Mutasi muncul sebagai kesalahan *germline* yang diturunkan atau muncul dalam sel somatik akibat kerusakan lingkungan, yang terus berkontribusi pada perkembangan tumor kolon. (Hamza, 2017)

### **2.2.2 Faktor Risiko yang tidak dapat Dimodifikasi**

Beberapa faktor risiko dikaitkan dengan kejadian KKR. Menurut KPKN Kemenkes RI tahun 2017, faktor-faktor yang tidak dapat dikendalikan oleh seseorang termasuk usia dan faktor keturunan. Selain itu, sejumlah besar faktor risiko lingkungan dan gaya hidup mungkin memainkan peran penting dalam pengembangan KKR, seperti yang tertera dibawah ini :



a. Usia

Kemungkinan diagnosis KKR meningkat setelah usia 40 tahun, meningkat secara progresif dari usia 40 tahun, meningkat tajam setelah usia 50 tahun. Lebih dari 90% kasus kanker kolorektal terjadi pada orang berusia 50 atau lebih. Angka kejadian lebih dari 50 kali lebih tinggi pada orang yang berusia 60 sampai 79 tahun dibandingkan mereka yang lebih muda dari 40 tahun. Namun, KKR tampaknya meningkat di antara orang-orang yang lebih muda. Faktanya, di Amerika Serikat, KKR adalah salah satu dari 10 kanker yang paling sering didiagnosis di antara pria dan wanita berusia 20 hingga 49 tahun.

b. Riwayat polip adenomatosa

Polip neoplastik kolorektal, yaitu adenoma tubular dan vili, merupakan lesi precursor KKR. Risiko seumur hidup untuk mengembangkan adenoma kolorektal hampir 19% pada populasi AS. Hampir 95% kanker kolorektal sporadis berkembang dari adenoma ini. Individu dengan riwayat adenoma memiliki peningkatan risiko terkena kanker kolorektal, dibandingkan individu yang tidak memiliki riwayat adenoma. Periode laten yang lama, diperkirakan 5 sampai 10 tahun, biasanya diperlukan untuk perkembangan keganasan dari adenoma. Deteksi dan pengangkatan adenoma sebelum transformasi maligna dapat mengurangi risiko KKR.

c. Riwayat *Inflammatory bowel disease* (IBD) seperti : Kolitis ulserativa dan penyakit Crohn.

d. Riwayat Genetik yang diwarisi

Sekitar 5-10% kanker kolorektal dipengaruhi oleh faktor keturunan. Kondisi bawaan yang paling umum adalah *familial adenomatous polyposis* (FAP) dan *hereditary nonpolyposis colorectal cancer* (HNPCC), juga disebut sindrom Lynch. Gen yang bertanggung jawab atas bentuk-bentuk KKR yang diwariskan ini telah diidentifikasi. HNPCC dikaitkan dengan mutasi pada gen yang terlibat dalam jalur perbaikan DNA, yaitu gen MutL homolog 1 (MLH1) dan MutS protein homolog 2 (MSH2), yaitu mutasi yang bertanggung jawab pada individu dengan HNPCC. FAP disebabkan oleh mutasi pada gen penekan tumor APC. Risiko seumur hidup KKR pada orang dengan mutase terkait HNPCC yang diakui mungkin setinggi 70 sampai 80%, dan usia rata-rata saat didiagnosis pada pertengahan 40-an. Mutasi MLH1 dan MSH2 juga terkait dengan peningkatan risiko relatif beberapa jenis kanker lainnya, termasuk beberapa keganasan ekstrasolonik, yaitu kanker rahim, lambung, usus halus, pankreas, ginjal, dan uretra. FAP menyumbang kurang dari 1% dari semua kasus KKR. (Marmol, 2017)

### 2.2.3 Faktor Risiko yang dapat di Modifikasi

a. Keterbatasan aktivitas dan obesitas

Aktivitas fisik yang tidak aktif atau “*physical inactivity*” merupakan sebuah faktor yang paling sering dilaporkan sebagai faktor yang berhubungan dengan KKR. Aktivitas fisik yang reguler mempunyai efek protektif dan dapat menurunkan risiko KKR sampai 50%. *American Cancer Society* menyarankan setidaknya

aktivitas fisik sedang seperti jalan cepat selama 30 menit atau lebih selama 5 hari atau lebih setiap minggu. Selain itu, kurangnya aktivitas fisik dapat menyebabkan kelebihan berat badan yang juga merupakan sebuah faktor yang meningkatkan risiko KKR. (KPKN Kemenkes RI, 2017)

b. Diet

Beberapa studi, termasuk studi yang dilakukan oleh *American Cancer Society* menemukan bahwa konsumsi tinggi daging merah dan/atau daging yang telah diproses meningkatkan risiko kanker kolon dan rektum. Risiko tinggi KKR ditemukan pada individu yang mengkonsumsi daging merah yang dimasak pada temperatur tinggi dengan waktu masak yang lama. Selain itu, individu yang mengkonsumsi sedikit buah dan sayur juga mempunyai faktor risiko KKR yang lebih tinggi. (KPKN Kemenkes RI, 2017)

c. Suplemen kalsium

Suplementasi kalsium untuk pencegahan kanker kolorektal tidak didukung data yang cukup. Sebuah penelitian *meta-analysis randomized controlled trials* menemukan bahwa suplementasi kalsium lebih dari 1.200 mg menurunkan risiko adenoma secara signifikan. Cara kerja kalsium dalam menurunkan risiko KKR belum diketahui secara pasti. (KPKN Kemenkes RI, 2017).

d. Vitamin D

Beberapa studi menunjukkan bahwa individu dengan kadar vitamin D yang rendah dalam darah mempunyai risiko KKR yang meningkat. Namun hubungan

antara vitamin D dan kanker belum diketahui secara pasti. (KPKN Kemenkes RI, 2017)

e. Merokok dan alkohol

Banyak studi telah membuktikan bahwa merokok dapat menyebabkan KKR. Hubungan antara merokok dan kanker lebih kuat pada kanker rektum dibandingkan dengan kanker kolon. Konsumsi alkohol secara sedang dapat meningkatkan risiko KKR. Individu dengan rata-rata 2 - 4 porsi alkohol per hari selama hidupnya, mempunyai 23% risiko lebih tinggi KKR dibandingkan dengan individu yang mengkonsumsi kurang dari satu porsi alkohol per hari. (KPKN Kemenkes RI, 2017)

f. Obat-obatan dan hormon

Aspirin, *nonsteroidal anti-inflammatory drugs* (NSAID) serta hormon pasca menopause dikatakan dapat mencegah KKR. Bukti-bukti penelitian kohort mulai mendukung pernyataan bahwa penggunaan aspirin dan NSAID secara teratur dan jangka panjang dapat menurunkan risiko KKR. Namun saat ini *American Cancer Society* belum merekomendasikan penggunaan obat-obat ini sebagai pencegahan kanker karena potensi efek samping perdarahan saluran cerna. (KPKN Kemenkes RI, 2017)

Terdapat bukti ilmiah yang cukup kuat mengenai wanita yang menggunakan hormon pasca menopause mempunyai angka KKR lebih rendah dibandingkan dengan yang tidak menggunakan. Penurunan risiko terbukti terutama pada wanita yang menggunakan hormon dalam jangka panjang, walaupun risiko kembali

meningkat seperti wanita yang tidak menggunakan terapi hormon setelah tiga tahun penghentian terapi. Penggunaan terapi hormon pasca menopause tidak dianjurkan untuk mencegah KKR karena dapat meningkatkan risiko kanker payudara dan penyakit kardiovaskular. (KPKN Kemenkes RI, 2017)

#### **2.2.4 Deteksi Dini**

Pencegahan kanker kolorektal dapat dilakukan mulai dari fasilitas kesehatan layanan primer melalui program-program di populasi/masyarakat dengan menghindari faktor-faktor risiko kanker kolorektal yang dapat di modifikasi dan dengan melakukan skrining atau deteksi dini pada populasi, terutama pada kelompok risiko tinggi. Tujuan skrining kanker kolorektal adalah deteksi dini, membuang lesi pre-kanker dan mendeteksi penyakit pada stadium dini sehingga dapat dilakukan terapi kuratif. (KPKN Kemenkes RI, 2017)

Indikasi pemeriksaan dini atau skrining KKR (KPKN Kemenkes RI, 2017) adalah individu dengan risiko sedang dan risiko tinggi. Yang termasuk risiko sedang adalah :

- Individu berusia 50 tahun atau lebih
- Individu yang tidak mempunyai riwayat KKR atau IBD
- Individu tanpa riwayat keluarga KKR
- Individu yang terdiagnosis adenoma atau KKR setelah berusia 60 tahun.

Yang termasuk risiko meningkat atau risiko tinggi adalah :

- Individu dengan riwayat polip adenomatosa
- Individu dengan riwayat reseksi kuratif KKR

- Individu dengan riwayat keluarga tingkat pertama KKR atau adenoma kolorektal (rekomendasi berbeda berdasarkan umur keluarga saat diagnosis)
- Individu dengan riwayat inflammatory bowel disease yang lama
- Individu dengan diagnosis atau kecurigaan *sindrom hereditary non-polyposis colorectal cancer* (HNPCC) atau sindrom Lynch atau *familial adenomatous polyposis* (FAP).

Pilihan pemeriksaan skrining ditentukan berdasarkan risiko individual, pilihan individual dan akses. Pada orang dewasa dengan risiko sedang, skrining harus dimulai pada individu berusia 50 tahun dengan pilihan berikut:

- Colok dubur
- FOBT atau FIT setiap 1 tahun
- Sigmoidoskopi fleksibel setiap 5 tahun
- Kolonoskopi setiap 10 tahun
- Barium enema dengan kontras ganda setiap 5 tahun
- CT kolonografi setiap 5 tahun

### 2.2.5 Diagnosis

Berikut ini adalah gejala dan tanda yang menunjukkan nilai prediksi tinggi akan adanya KKR : (KPKN Kemenkes RI, 2017)

#### a. Keluhan utama dan pemeriksaan klinis

- Perdarahan per-anum disertai peningkatan frekuensi defekasi dan/atau diare selama minimal enam minggu (semua umur).
- Perdarahan per-anum tanpa gejala anal (di atas 60 tahun).

- Peningkatan frekuensi defekasi atau diare selama minimal 6 minggu (di atas 60 tahun).
- Massa teraba pada fossa iliaka dekstra (semua umur) Massa intra-luminal di dalam rektum.
- Tanda-tanda obstruksi mekanik usus. Setiap pasien dengan anemia defisiensi Fe (Hb <11g% untuk laki-laki atau <10g% untuk perempuan pascamenopause).

b. Pemeriksaan colok dubur

Pemeriksaan colok dubur dilakukan pada setiap pasien dengan gejala ano-rektal. Pemeriksaan ini harus dinilai keutuhan sfingter ani dan mengatur ukuran dan derajat fiksasi tumor pada rektum 1/3 tengah dan distal. Pada pemeriksaan colok dubur ini yang harus dinilai adalah:

- Keadaan tumor, dimana dilakukan penilaian perpanjangan pada dinding rektum serta letak bagian terendah terhadap cincin anorektal, serviks uteri, bagian atas kelenjar prostat atau ujung os *coccygis*.
- Mobilitas tumor, hal ini sangat penting untuk diketahui prospeksi terapi pembedahan.
- Ekstensi dan ukuran tumor dengan batas atas, bawah, dan sirkuler.

## c. Pemeriksaan penunjang

Tabel 2.1 Perbandingan antar Metode Diagnostik (Granados-Romero, *et al.*, 2017)

Metode	Mekanisme	Sensibilitas	Spesifitas	Observasi
Pemeriksaan colok dubur	Sama seperti evaluasi awal dari pasien yang bergejala.	4.9%	97.1%	Itu tidak dianggap sebagai tes skrining. Ini memungkinkan deteksi massa.
Darah pada feses (Tes <i>Guaiac</i> )	Mendeteksi peroxidase dari kelompok Heme dalam darah yang ada dalam feses	30 - 52% Dapat meningkat hingga 90% jika digunakan 1-2 tahun.	95.2%	Tidak spesifik untuk hemoglobin manusia dan dapat memberikan hasil positif palsu dengan makanan yang menunjukkan aktivitas peroksidase seperti sayuran mentah, daging merah, oleh karena itu rekomendasinya adalah untuk tidak mengonsumsi jenis makanan tersebut tiga hari sebelum sampel diambil, serta <i>NSAID</i> 7 hari sebelumnya.
Imunohistokimia Feses	Reaksi antibodi monoklonal atau poliklonal spesifik terhadap hemoglobin manusia, albumin, atau komponen lain dari darah pada feses.	76.5%	95.3%	Lebih spesifik daripada uji <i>Guaiac</i> karena tes ini reaktif terhadap kelompok heme manusia. Ideal untuk penapisan populasi. Pembatasan farmakologis atau diet tidak diperlukan.
Analisis DNA dalam residu feses	<i>PCR</i> Identifikasi mutasi: <i>Kras</i> , <i>ACP</i> , <i>p53</i> dan tingkat tinggi <i>PDX1</i>	52%	94.4%	-
Kolonoskopi	Deteksi polip atau kelainan Metode skrining untuk kanker kolorektal	91%	94%	Terkait dengan risiko perforasi 2% risiko perdarahan 0,5% dengan melakukan polipektomi Risiko gangguan pernapasan, aritmia, dan hipotensi arteri.
Kapsul endoskopi	Kamera video yang dicerna untuk patologi usus	77%	59%	-
Barium enema	Dengan barium kontras ganda, terdiri atas pemberian	61% - 100%	100% pasien yang tidak dapat	Risiko: Perforasi 1 / 25.000 Kematian 1 / 55.000 kasus. Efisiensi terbatas, digunakan ketika kolonoskopi



	barium dan menekan udara ke dalam usus besar.			melakukan kolonoskopi	dikontraindikasikan atau ketika tidak ada metode diagnostik lain yang tersedia.
<i>CT-scan</i>	Gambar di bagian jaringan <i>ultrathin</i> (0,5, 0,625 o 0,75 mm)				Hal ini memungkinkan evaluasi penyebaran kanker, komplikasi, kekambuhan dan respons pengobatan.
Kolonoskopi virtual	Varian <i>Computed Tomography</i> , di mana menggunakan media kontras meningkatkan diferensiasi dengan residu feses.				Alternatif barium enema pada pasien dengan kolonoskopi kontraindikasi seperti antikoagulan, fibrosis paru atau alergi terhadap obat penenang.
<i>MRI</i>	Membedakan karakteristik tumor yang terkait dengan metastasis.	75-90%	96%		Tidak adanya radiasi pengion, kurang invasif, dengan resolusi yang lebih baik pada jaringan lunak sehingga dapat dievaluasi secara lokal dan invasi jarak jauh.
Kolonoskopi /sigmoidoskopi fleksibel	Ini dilakukan dengan endoskopi yang memungkinkan pemeriksaan lapisan mukus hingga 60 cm dari batas anal (rektum, kolon sigmoid dan kolon desendens)	58-75% pada lesi kecil 72-86% pada lesi lanjut	94%		Pengurangan penting angka kematian pada kanker kolorektal. Harus dilakukan setiap lima tahun.
Ultrasonografi endorektal	Menggunakan transduser 7,5-10 MHz membutuhkan balon dengan salin untuk menghasilkan gambar 360°, memungkinkan visualisasi beberapa lapisan.	69-97%			Metode utama untuk kanker kolorektal terutama stratifikasi. Perulangan lokal yang menunjukkan reseksi lokal pada lesi superfisial.
<i>PET scan</i>					Ini memungkinkan pementasan tumor, kelenjar getah bening, terutama stadium metastasis ekstrahepatik dalam satu sesi gambar tunggal.

#### d. Pemeriksaan Histopatologi

Lebih dari 90% kanker kolorektal adalah adenokarsinoma yang berasal dari sel epitel mukosa kolorektal. Jenis langka lainnya termasuk neuroendokrin, sel skuamosa, adenoskuamosa, sel spindel dan karsinoma yang tidak berdiferensiasi. Adenokarsinoma konvensional ditandai oleh pembentukan kelenjar, yang merupakan dasar untuk penilaian tumor histologis. Pada adenokarsinoma yang terdiferensiasi dengan baik > 95% tumor membentuk kelenjar. Adenokarsinoma dengan diferensiasi sedang menunjukkan pembentukan kelenjar 50-95%. Adenokarsinoma yang berdiferensiasi buruk sebagian besar padat dengan pembentukan kelenjar <50%. (Hamilton SR, *et al.*, 2010)

Karsinoma invasif biasanya menyerang melalui mukosa muskularis ke dalam submukosa, dan kadang-kadang terlihat dekat dengan pembuluh darah submukosa. Ciri penting lain dari invasi adalah adanya desmoplasia atau reaksi desmoplastik sejenis proliferasi berserat yang mengelilingi sel-sel tumor sekunder akibat pertumbuhan tumor invasif. (Fleming, *et al.*, 2012)

Menurut klasifikasi WHO edisi 5 tahun 2019, sejumlah varian histologis kanker kolorektal sebagai berikut :

<u>Jenis histopatologi</u>	<u>Kode ICD-O</u>
• <i>Adenocarcinoma</i> , NOS	8140/3
○ <i>Adenoma-like adenocarcinoma</i>	8213/3
○ <i>Micropapillary adenocarcinoma</i>	8262/3
○ <i>Mucinous adenocarcinoma</i>	8480/3
○ <i>Poorly cohesive carcinoma</i>	8490/3

○ <i>Signet ring cell carcinoma</i>	8490/3
○ <i>Medullary adenocarcinoma</i>	8510/3
○ <i>Adenosquamous carcinoma</i>	8560/3
○ <i>Carcinoma, undifferentiated, NOS</i>	8020/3
○ <i>Carcinoma with sarcomatoid component</i>	8033/3
● <i>Neuroendocrine tumor, NOS</i>	8240/3
○ <i>Neuroendocrine tumor, grade 1</i>	8240/3
○ <i>Neuroendocrine tumor, grade 2</i>	8249/3
○ <i>Neuroendocrine tumor, grade 3</i>	8249/3
○ <i>L cell tumor</i>	8152/3
○ <i>Glucagon-like peptide producing tumor</i>	8152/3
○ <i>PP / PYY producing tumor</i>	8152/3
○ <i>Enterochromaffin cell carcinoid</i>	8241/3
○ <i>Serotonin producing carcinoid</i>	8241/3
● <i>Neuroendocrine carcinoma, NOS</i>	8246/3
○ <i>Large cell neuroendocrine carcinoma</i>	8013/3
○ <i>Small cell neuroendocrine carcinoma</i>	8041/3
● <i>Mixed neuroendocrine - nonneuroendocrine neoplasm (MiNEN)</i>	8154/3

Jenis Adenokarsinoma dikategorikan berdasarkan persentase pembentukan kelenjar / derajat diferensiasi dibagi menjadi tiga, yaitu derajat diferensiasi baik (*Well differentiated, >95 % with gland formation*), derajat diferensiasi sedang (*Moderately differentiated, 50-95 % with gland formation*), dan derajat diferensiasi

buruk (*poorly differentiated, 0-49 % with gland formation*). Kemudian selanjutnya dibagi dalam dua tingkat yaitu tingkat rendah / *low grade* (diferensiasi baik-sedang) dan tingkat tinggi / *high grade* (diferensiasi buruk). (Gonzalez RS, 2022)

Penanda imunohistokimia yang paling banyak digunakan untuk adenokarsinoma kolorektal adalah sitokeratin (*CK*) 20, *CK7* dan *CDX2*. *Immunophenotype* adenokarsinoma kolorektal yang paling umum adalah positif untuk *CK20* dan negatif untuk *CK7*, yang merupakan pola pewarnaan yang relatif spesifik untuk asal kolorektal (Recio-Boiles A, *et al.*, 2019).

#### **2.2.6 Sistem Stadium (*Staging*)**

Kedalaman invasi merupakan salah satu komponen stadium tumor, yang merupakan faktor prognostik penting kanker kolorektal. Meskipun ada banyak sistem yang dikembangkan untuk penentuan stadium kanker kolorektal, namun sistem TNM (Tumor, Node, Metastasis) yang ditetapkan oleh *American Joint Committee on Cancer (AJCC)* dan *International Union Against Cancer (UICC)* paling sering digunakan. Sistem TNM lebih detail dan lebih *reproducible* dibandingkan sistem lain seperti Dukes atau Astler-Coller. Oleh karena itu sistem ini dianjurkan oleh AJCC dan UICC sebagai dasar dalam menentukan prognosis dan pengobatan pasien. (Akkoca, Yanic., 2014)

Klasifikasi stadium kanker digunakan untuk menentukan luas atau ekstensi kanker dan nilai prognostik pasien. Sistem yang paling banyak digunakan adalah sistem *TNM American Joint Committee on Cancer (AJCC) 2017*.

Tabel 2.2 Sistem stadium TNM pada kanker kolon dan rektum berdasarkan *American Joint Committee on Cancer (AJCC) 2017*: Tumor primer (T), Kelenjar Getah Bening (N), dan Metastasis (M).

<b>T</b>	<b>TUMOR PRIMER</b>
TX	Tumor primer tidak bisa dinilai
T0	Tidak ada bukti adanya tumor primer
Tis	Karsinoma <i>in situ</i> : intraepitelial atau invasi ke lamina propria
T1	Tumor menginvasi ke submukosa
T2	Tumor menginvasi ke muskularis propria
T3	Tumor menginvasi melalui muskularis propria ke jaringan perikolorektal
T4a	Tumor berpenetrasi ke lapisan peritoneum viseral
T4b	Tumor secara langsung menginvasi atau melekat ke organ atau struktur lain
<b>N</b>	<b>KELENJAR GETAH BENING REGIONAL</b>
NX	Kelenjar getah bening regional tidak bisa dinilai
N0	Tidak ada metastasis ke kelenjar getah bening regional
N1	Metastasis dalam 1-3 kelenjar getah bening regional atau tumor berdeposit pada lokasi lain meskipun pada kelenjar getah bening regional tidak ditemukan.
N1a	Metastasis dalam 1 kelenjar getah bening regional
N1b	Metastasis dalam 2-3 kelenjar getah bening regional
N1c	Tumor berdeposit di lapisan subserosa, mesenterium atau perikolik non pertinoneal atau ke jaringan perirektal tanpa ada metastasis ke kelenjar getah bening regional.
N2	Metastasis pada $\geq$ empat kelenjar getah bening regional
N2a	Metastasis pada empat-enam kelenjar getah bening regional
N2b	Metastasis pada $\geq$ tujuh kelenjar getah bening regional

<b>M</b>	<b>METASTASIS JAUH</b>
M0	Tidak ada metastasis jauh
M1	Ada metastasis jauh ke satu tempat atau lebih atau organ atau peritonium
M1a	Metastasis terkonfirmasi ke 1 organ (hati/paru/ovarium/kelenjar getah bening <i>non regional</i> ) tanpa metastases ke peritoneum
M1b	Metastasis ke lebih satu organ tanpa metastases ke peritoneum
M1c	Metastases ke permukaan peritoneum, dengan atau tanpa metastases ke organ lain

Tabel 2.3. Penilaian stadium berdasarkan TNM pada kanker kolon dan rektum berdasarkan *American Joint Committee on Cancer (AJCC) 2017*

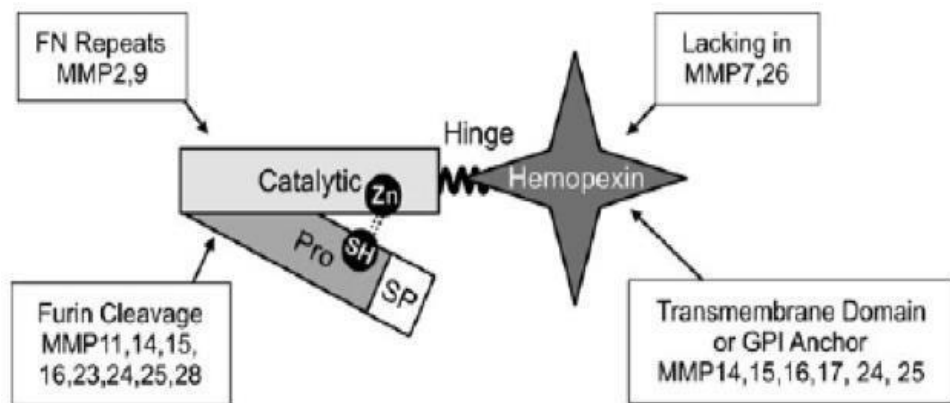
Stadium	T	N	M
0	Tis	N0	M0
I	T1	N0	M0
	T2	N0	M0
IIA	T3	N0	M0
IIB	T4a	N0	M0
IIC	T4b	N0	M0
IIIA	T1-T2	N1/N1c	M0
	T1	N2a	M0
IIIB	T3-T4a	N1/N1c	M0
	T2-T3	N2a	M0
	T1-T2	N2b	M0
IIIC	T4a	N2a	M0
	T3-T4a	N2b	M0
	T4b	N1-N2	M0
IVA	<i>Any T</i>	<i>Any N</i>	M1a
IVB	<i>Any T</i>	<i>Any N</i>	M1b
IVC	<i>Any T</i>	<i>Any N</i>	M1c

### 2.3 Matriks Metalloproteinase

Matriks metalloproteinase (MMP) pertama kali diidentifikasi pada vertebra oleh Jerome Gross dan Charles M. Lapiere pada tahun 1962 yang meneliti degradasi kolagen *triple-helical* selama metamorfosis pada kecebong (Krizkova *et al.*, 2011). MMP, *cysteine proteinases*, *aspartic proteinases* dan *serine proteinase* merupakan enzim proteolisis yang terlibat dalam degradasi matriks ekstraseluler (Amalinei *et. al.*, 2010).

MMP merupakan famili *zinc dependent endopeptidase*, kumpulan besar enzim yang bertanggung jawab terhadap remodelling jaringan dan degradasi berbagai komponen dari matriks ekstraseluler, termasuk kolagen, elastin, gelatin, matriks glikoprotein dan proteoglikan (Verma & Hansch, 2007).

Saat ini, terdapat lebih dari 26 anggota keluarga MMP dan semuanya dapat dikelompokkan berdasarkan strukturnya (Amalinei *et. al.*, 2010). Struktur MMP secara garis besar terdiri dari : 1) sinyal peptida yang mengarahkan MMP untuk mensekresi atau jalur insersi membran plasma; 2) prodomain; 3) katalitik domain berikatan dengan zinc; 4) domain hemopexin yang menjadi perantara interaksi dengan substrat dan enzim spesifik; 5) regio *hinge* yang berhubungan dengan katalitik dan domain hemopexin (Dufour *et al.*, 2010).



Gambar 2.2. Struktur MMP (Gill & Parks, 2011)

MMP secara garis besar terbagi menurut spesifisitas substrat, persamaan rangkaian dan organisasi domain, dibagi menjadi enam grup, yaitu: *Kolagenase*, *Gelatinase*, *Stromelysin*, *Matrilysin*, *Membrane-type MMPs Transmembrane*, MMP lainnya (Amalinei, Caruntu & Balan, 2007). Antara kondisi fisiologis dan patologis, ekspresi MMP akan cepat terangsang ketika remodeling jaringan diperlukan (Decock *et. al.*, 2008).

MMP mempunyai peranan pada embriogenesis dan kondisi fisiologis lainnya seperti proliferasi, motilitas sel, remodeling, penyembuhan luka dan proses reproduksi seperti ovulasi, implantasi embrio, proliferasi endometrium, involusi uterus, payudara serta prostat (Amalinei, Caruntu & Balan, 2007).



Tabel 2.4 Group Matriks Metalloproteinase (Amalinei, Caruntu &amp; Balan, 2007).

Enzim	MMP
<b>Kolagenase :</b>	
• Kolagenase - 1	MMP - 1
• Kolagenase - 2	MMP - 8
• Kolagenase - 3	MMP - 13
<b>Gelatinase :</b>	
• Gelatinase - A	MMP - 2
• Gelatinase - B	MMP - 9
<b>Stromelysin :</b>	
• Stromelysin - 1 (progelatinase)	MMP - 3
• Stromelysin - 2	MMP - 10
• Stromelysin - 3	MMP - 11
<b>Matriksin :</b>	
• Matriksin - 1 (uterine matriksin)	MMP - 7
• Matriksin - 2 (endometase)	MMP - 26
<b>Membrane-type MMPs Transmembrane :</b>	
• MT1 - MMP	MMP - 14
• MT2 - MMP	MMP - 15
• MT3 - MMP	MMP - 16
• MT5 - MMP	MMP - 24
• MT4 - MMP	MMP - 17
• MT6 - MMP (leukolysin)	MMP - 25
<b>Lainnya :</b>	
• Macrophage elastase	MMP - 12
• RAS1-1	MMP - 19
	(MMP - 18)
• Enamelysin	MMP - 20
<hr/>	
• XMMP (Xenopus)/Cy-MMP (Cynops)	MMP - 21
	(MMP - 23A)
• Femalysin	MMP - 22
• CA-MMP	MMP - 23
• CMMP (Gallus)	MMP - 27
• Epilysin	MMP - 28

MMP diekskresikan oleh bermacam *connective tissue* dan sel proinflamasi termasuk fibroblast, osteoblas, sel endotelial, makrofag, neutrofil dan limfosit (Verma & Hansch, 2007). Ekspresi aktivasi MMP dapat dikontrol pada tingkat transkripsi gen oleh aktivasi proenzim dan inhibitor spesifik dan non spesifik. Kebanyakan MMP disekresi sebagai proenzim laten (*inactive zymogen*) yang

mengalami pemecahan proteolisis di amino-terminal domain saat aktivasi (Amalinei, Caruntu & Balan, 2007). Secara kolektif, kesemua famili MMP dapat mendegradasi semua komponen *extracellular matrix* (ECM) dan membran basalis epitel. Masing-masing komponen matriks ekstraseluler dapat dipecah oleh kelompok MMP atau MMP yang spesifik (Quan *et al*, 2013).

Dari keseluruhan jenis MMP yang pernah ditemukan sampai sekarang ini, jenis Gelatinase dalam hal ini MMP-2 dan MMP-9 merupakan enzim utama untuk mendegradasi kolagen tipe IV, V, VII, X, XI dan XIV, gelatin, elastin, proteoglycan core protein, myelin basic protein, fibronektin, fibrilin-1 dan prekursor TNF- $\alpha$  dan IL-1b dan mampu memecah kolagen tipe I, komponen utama yang membentuk struktur molekul stroma (Brown & Murray, 2015).

MMP-2 dan MMP-9 adalah jenis enzim sering diteliti dan dipelajari karena sangat berhubungan dalam pertumbuhan dan perkembangan sel kanker. Ekspresi MMP-2 dan MMP-9 mempunyai peranan dalam karakter invasi sel melalui kemampuannya untuk mendegradasi kolagen tipe IV yang merupakan komponen utama membran basal. Peranan MMP dilakukan dengan regulasi sitokin, *growth factor*, dan *cell adhesion molecules*. MMP-3, MMP-7, MMP-9 dan MMP-19 melepaskan IGF (*insulin-like growth factor*) yang menstimulasi proliferasi tumor. Permukaan yang telah berikatan dengan MMP-9 akan mengaktifkan TGF- $\beta$  yang berperan dalam invasi tumor dan angiogenesis. MMP-2, MMP-3, MMP-7, MMP-9, MMP-12, MMP-13 dan MMP-20 melepas angiostatin selain itu MMP-3, MMP-7, MMP-9 dan MMP-19 juga melepas VEGF yang menstimulasi angiogenesis tumor (Brown & Murray, 2015).

### 2.3.1 Matriks Metalloproteinase dalam Proses Keganasan

Karakteristik dasar dari kanker adalah kemampuannya untuk menginvasi jaringan sekitarnya dan metastasis regional dan jauh. Penelitian dasar kanker pada umumnya ditujukan kepada mutasi sel kanker yang menyebabkan *gain-of-function* onkogen atau *loss-of-function* tumor supressor gen. Namun, matriks ekstraseluler tumor, sel stromal pada tumor juga berperan penting terhadap progresi dari tumor (Brown & Murray, 2015).

Matriks ekstraseluler merupakan barrier utama yang harus dilewati sel kanker untuk menimbulkan suatu metastasis. Sel kanker awalnya harus melewati membran basal epitel, kemudian menginvasi ke stroma di sekitarnya. Setelah itu, sel kanker akan memasuki pembuluh darah atau limfatik dan ekstravasasi ke organ jauh untuk membuat proliferasi tumor yang baru. Proses metastasis ini didukung dengan munculnya sekresi beberapa enzim proteolisis yang akan mendegradasi beberapa komponen matriks ekstraseluler (Deryugina, 2015)

Degradasi ini akan membentuk lubang kecil pada membran basal sekitar pembuluh darah sehingga terjadi ekstravasasi dan invasi sel tumor (Brown & Murray, 2015). MMP, famili *zinc dependent endopeptidase*, merupakan protease utama yang berperan dalam migrasi sel tumor, penyebaran, invasi jaringan dan metastasis. Di samping itu, terjadinya malignansi juga berhubungan dengan angiogenesis yang memudahkan terjadinya pertumbuhan tumor, memudahkan penyebaran melalui hematogen. MMP mempunyai peranan terjadinya angiogenesis melalui pelepasan dan aktivasi proangiogenik potensial atau melakukan degradasi terhadap inhibitor angiogenesis. Aktivitas MMP juga

berhubungan dengan mekanisme sel kanker terhindar dari respon sistem imun. Beberapa MMP termasuk MMP-9 mampu menekan proliferasi limfosit T dengan merusak sinyal IL-2R $\alpha$  (Krizkova *et al*, 2011).

MMP memfasilitasi proses invasi dan metastasis dengan mendegradasi komponen matriks ekstraseluler. Selain itu juga memperantarai aktivasi faktor pertumbuhan, menekan apoptosis sel tumor, dan merusak perkembangannya gradien kemokin respon imun host serta pelepasan faktor angiogenesis. Peningkatan aktivitas MMP telah dideteksi dan menunjukkan hubungan dengan invasi dan metastasis beberapa kanker termasuk ovarium, paru, payudara, kolorektal dan kanker sel serviks. Tahapan MMP dalam proses keganasan yaitu sebagai berikut (Brown & Murray, 2015) :

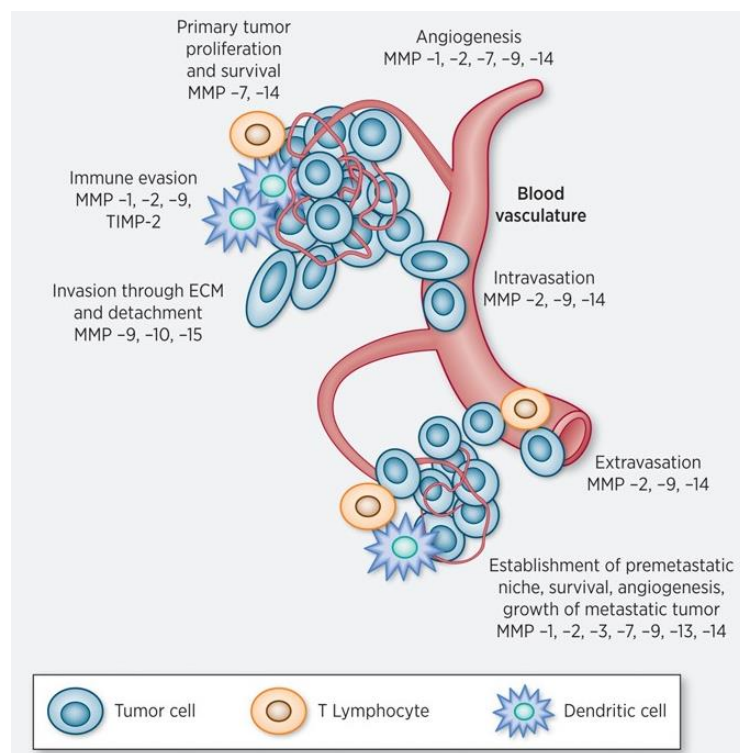
- MMP membantu pembentukan *micro environment* yang mendukung bagi pertumbuhan tumor yang diperkirakan terjadi melalui pelepasan *growth factor* matriks ekstraseluler.
- MMP membantu proses angiogenesis tumor dan peningkatan kemampuan sel tumor untuk bermigrasi dan menginvasi stroma disekitarnya.
- MMP berperan dalam proses angiogenesis pada lokasi metastasis sehingga mendukung kelangsungan hidup sel tumor metastasis.
- MMP berperan dalam kerusakan membran basalis dinding pembuluh darah, sehingga memudahkan masuknya sel tumor ke dalam sirkulasi darah (intravasasi) dan keluar dari sirkulasi darah (ekstravasasi).

- MMP kemudian berperan juga dalam modifikasi *micro environment* baru di tempat metastasis. Hal ini akan membantu proses pertumbuhan sel tumor metastasis di lingkungan barunya.

Penelitian kanker terutama difokuskan pada molekul yang diekspresikan berlebih dimana ini membantu dalam perkembangan sel kanker. Telah ditemukan bahwa ECM memiliki peran penting dalam perkembangan kanker. Interaksi antara sel-sel ini dan komponen ECM sangat penting untuk transformasi sel serta genesis karsinoma. MMP diekspresikan pada kanker manusia dan terkait dengan setiap tahap perkembangan kanker. (Bourboulia D, Stetler-Stevenson WG, 2010).

Sel kanker dengan cara parakrin, dengan mensekresi interleukin, interferon, faktor pertumbuhan dan induktor MMP ekstraseluler, merangsang sel inang di sekitarnya untuk menghasilkan MMP yang diperlukan. MMP yang disekresikan oleh sel normal dapat terikat pada permukaan sel kanker dan digunakan oleh sel tumor dimana semua terlibat selama proses karsinogenesis. (Gialeli C, *et al*, 2010)

Ekspresi MMP awal dalam sel tumor membantu dalam remodeling ECM dan melepaskan faktor pertumbuhan yang terikat pada membran dan mempersiapkan lingkungan mikro untuk tumorigenesis. Peran MMP-9 dalam angiogenesis, metastasis dan invasi kanker telah diidentifikasi. MMP-9 juga bertanggung jawab untuk kelangsungan hidup dan penyebaran sel kanker. (Bourboulia D, Stetler-Stevenson WG, 2010)



Gambar 2.3: Peranan MMP dalam progresifitas, invasi, dan metastasis tumor. (Winer A, Adams S, Mignatti P, 2018)

MMP-9 juga ditemukan diinduksi oleh faktor *Vascular Endotelial Growth Factor (VEGF)* selama metastasis paru dan selanjutnya, defisiensi MMP-9 membantu mengurangi metastasis. MMP-9 memiliki peran penting dalam beberapa kanker yang terkait dengan peradangan. Gelatinase terutama MMP-9 terkait dengan regulasi negatif dari respon imun terhadap kanker dengan membelah interleukin-2a (IL-2a) serta melalui pelepasan antar molekul adhesi-1 (ICAM-1) dan faktor pertumbuhan transformasi (TGF-b aktivasi). (Yadav L *et al.*, 2014)

### 1. Metastasis

Metastasis adalah penyebab utama kematian pada pasien kanker. MMP 9 menyebabkan degradasi gelatin dan kolagen tipe IV, V, XI dan XVI yang penting untuk metastasis. MMP-9 mempromosikan metastasis melalui kerusakan penghalang fisik ECM. Metastasis terjadi dalam beberapa tahap. Awalnya terjadi pemutusan bagian intraseluler dan pelepasan sel tumor. Setelah itu terjadi degradasi komponen ECM dan migrasi sel terjadi. Kemudian sel tersebut menembus ke dalam darah dan pembuluh limfatik dan menempel pada sel endotel. Akhirnya mengarah ke pertumbuhan sel tumor sekunder di bagian tubuh lainnya. Kontribusi utama MMP-9 yang diturunkan dari inang dalam metastasis tumor. Dengan demikian, aktivitas MMP-9 yang direduksi oleh inhibitor berguna dalam metastasis. (Yadav L *et. al*, 2014)

### 2. Invasi

MMP-9 menyebabkan degradasi kolagen tipe IV dari membran basal dekat sel tumor yang akan menginvasi ke jaringan sekitarnya, yang akan membuka jalan untuk terjadinya metastasis. Oleh karena itu, dengan memblokir MMP-9 akan menghambat invasi sel kanker (Yadav L *et. al*, 2014)

### 3. Angiogenesis

Proses ini penting untuk pertumbuhan dan perkembangan sel tumor. Beberapa komponen ECM seperti fibronektin, trombospondin 1, laminin dan osteopontin mempengaruhi fenotipe tumor dengan memodulasi migrasi sel kanker dan angiogenesis. MMP mendukung angiogenesis dengan menurunkan membran basal dan komponen ECM. Karena gangguan membran basal, sel endotel

bermigrasi dari pembuluh yang ada untuk menghasilkan pembuluh darah baru dan juga melepaskan faktor terikat ECM. Aktivitas MMP menyebabkan terungkapnya epitop tersembunyi protein ECM. MMP-9 terlibat dalam mekanisme angiogenesis, namun MMP juga dapat menghambat mekanisme angiogenesis. Hal tersebut menyebabkan degradasi plasminogen melepaskan angiostatin dan juga membelah kolagen XVIII untuk menghasilkan endostatin sehingga menghambat proses angiogenesis. MMP-2, -7, -9 dan 12 membantu pencernaan plasminogen untuk melepaskan angiostatin. Angiostatin yang dihasilkan ini dapat meningkatkan apoptosis pada sel tumor. (Yadav L *et. al*, 2014).

#### 4. Apoptosis

MMPs memiliki aktivitas *pro-apoptosis* dan *anti-apoptosis*. Aktivitas *pro-apoptosis* terkait dengan perubahan komposisi ECM. Aktivitas *anti-apoptosis* adalah pembelahan ligan Fas, aktivasi serin atau protein kinase B atau AKT treonin kinase. MMPs membelah molekul adhesi dan menyebabkan apoptosis. Angiostatin menyebabkan apoptosis pada sel kanker dan endostatin berikatan dengan pro-MMP-9 menghasilkan kompleks stabil yang menghambat aktivasi MMP-9. (Kessenbrock K, 2010).

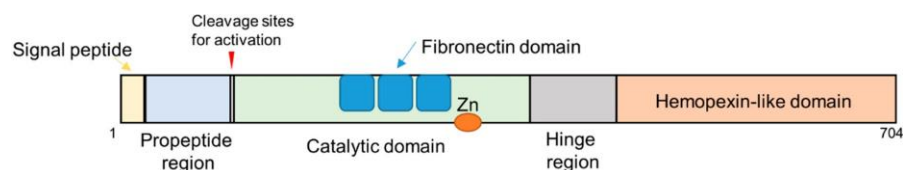
Secara khusus, MMP-9 adalah salah satu MMP yang paling banyak diteliti dimana memiliki peran penting dalam invasi sel kanker dan metastasis tumor,. Tinjauan ini berfokus pada MMP-9, meskipun bukan satu-satunya anggota MMP yang memiliki peran penting dalam perkembangan kanker. Bersama dengan MMP-2, MMP-9 termasuk dalam subkelompok gelatinase dari keluarga MMP.



Overekspresi MMP-9 sering diamati pada tumor ganas yang berbeda. Banyak penelitian telah mengeksplorasi MMP-9 sebagai biomarker pada berbagai jenis kanker. Selain itu, berbagai biosensor MMP-9 baru telah dikembangkan untuk mendeteksi protein ini. (Huang, 2018)

Gen MMP-9 manusia terletak pada kromosom 20q13.12. Gen ini mengandung 13 ekson dan 12 intron. Protein MMP-9 manusia mengandung domain seperti hemopexin, domain katalitik, peptida sinyal, wilayah engsel, dan wilayah propeptida (Gambar 2.4). Domain katalitik MMP-9 mengandung domain fibronektin tipe II (FN2), situs aktif dan wilayah pengikatan seng. Protein ini mengandung dua ion seng dan lima ion kalsium. Sebagai anggota dari *zinc-dependent endopeptidases*, MMP-9 membutuhkan ion zinc untuk aktivitas katalitiknya. (Huang, 2018)

Meskipun beberapa penelitian telah mengungkapkan informasi struktural tentang beberapa domain MMP-9, struktur lengkap enzim masih belum diketahui secara pasti. Salah satu alasan mengapa struktur enzim lengkap sulit untuk diungkapkan adalah karena beberapa daerah MMP-9 sangat fleksibel, seperti beberapa bagian daerah engsel yang memberikan fleksibilitas antara domain seperti hemopexin dan domain katalitik ke MMP-9, yang mungkin penting untuk fungsi enzim ini serta memainkan peran penting dalam aktivitas katalitik enzim yang aktif sebagai pengikat seng dalam domain ini. Selain itu, domain fibronektin merupakan domain penting pada MMP-9 untuk beberapa pengikatan dan proses degradasi substrat. (Huang, 2018)



Gambar 2.4. Ilustrasi skema struktur domain dan motif MMP-9 (Huang, 2018)

Domain seperti hemopexin MMP-9 terdiri dari baling-baling berbilang empat untuk membentuk struktur berbentuk tong. Domain seperti hemopexin dari MMP-9 dapat berinteraksi dengan substrat, seperti gelatin dan kolagen. Domain ini penting untuk spesifisitas selama pengenalan substrat. Sebagai penghambat alami MMP-9, beberapa penghambat jaringan metalloproteinase (TIMPs), seperti TIMP-1, dapat berikatan dengan domain pro- MMP-9 seperti hemopexin untuk membentuk kompleks ketat yang dapat mencegah aktivasi MMP-9. (Huang, 2018)

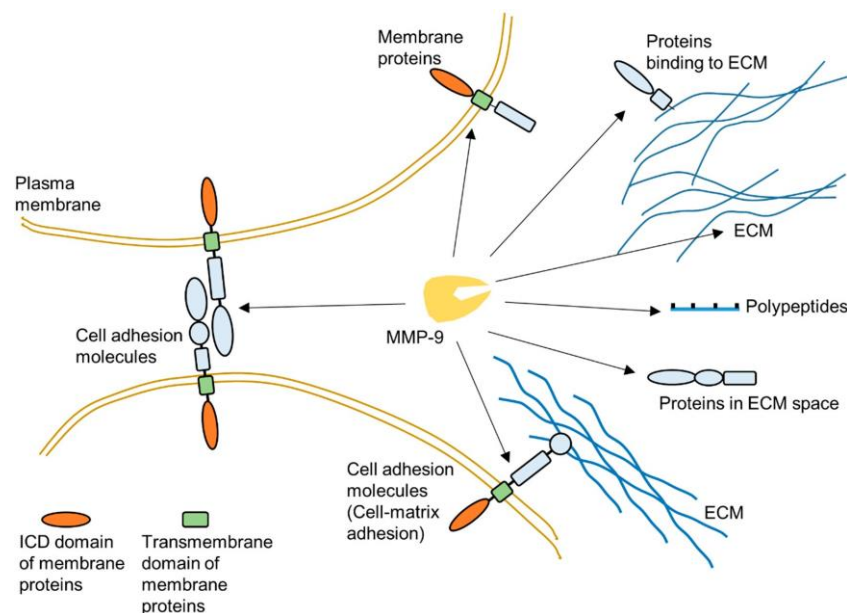
Domain seperti hemopexin dari MMP-9 relatif khusus, yang dapat menyebabkan peran biologis yang berbeda dari MMP-9 dalam fungsi sel dan membentuk kluster terpisah selama analisis keselarasan urutan domain seperti hemopexin dari semua MMP manusia. Selain itu, juga berbagi identitas asam amino rendah dengan domain seperti hemopexin dari MMP lain. (Huang, 2018)

Pada manusia, beberapa jenis sel dapat mensintesis dan mensekresi MMP-9, yang meliputi neutrofil, makrofag, fibroblas, dan sel endotel. MMP-9 disintesis sebagai pra-proenzim dengan 19 peptida sinyal N- terminal asam amino di dalam sel. Kemudian, disekresikan ke lingkungan ekstraseluler sebagai pro-MMP-9 yang

tidak aktif (sekitar 92 kDa). Aktivasi MMP-9 membutuhkan pembelahan oleh protease lain setelah pro- MMP-9 disekresi. Beberapa protease, seperti MMP-3, dapat membelah pro-MMP-9 yang tidak aktif untuk menghasilkan MMP-9 aktif (sekitar 82 kDa) dengan menghilangkan daerah propeptida terminal-N dari pro-MMP-9. Sebuah saklar sistein sangat penting untuk aktivasi MMP-9. Satu residu sistein (Cys99) dalam propeptida pro-MMP-9 dapat berinteraksi dengan ion seng katalitik dari protein ini. Interaksi ini diperlukan dalam pemeliharaan latensi MMP. Penghapusan proteolitik wilayah propeptida akan sepenuhnya mengganggu interaksi ini. Setelah aktivasi, MMP-9 dapat membelah substratnya di situs pembelahan MMP-9. Selain aktivasi proteolitik, beberapa agen juga dapat mempengaruhi aktivitas MMP-9, seperti beberapa spesies oksigen reaktif (ROS) dan oksida nitrat. ROS dapat mengganggu interaksi antara ion seng katalitik dan Cys99, yang dapat menyebabkan aktivasi MMP-9. (Huang, 2018)

Biasanya, untuk substrat MMP-9 tersebut, urutan residu asam amino yang mengelilingi situs pembelahan menentukan apakah posisi ini dapat dibelah secara efisien oleh MMP-9 . Urutan konsensus yang paling umum dari situs pembelahan ini berisi urutan Pro-XX-Hy-(Ser/Thr) pada posisi P3 hingga P2kan posisi (X mewakili residu apa pun; Hy mewakili residu hidrofobik; situs pembelahan terletak antara P1-P1kan. MMP-9 diatur oleh beberapa tingkat regulasi, yang meliputi transkripsi, regulasi pasca-transkripsi (regulasi mRNA), translasi, sekresi proMMP-9, regulasi pasca-translasi (aktivasi proMMP-9), dan inhibisi (penghambatan TIMPs). (Huang, 2018)

Sebagai salah satu MMP yang paling banyak diselidiki, MMP-9 adalah protease signifikan yang memainkan peran penting dalam banyak proses biologis, seperti penyembuhan luka. Protease ini memiliki berbagai substrat. Substrat penting dari MMP-9 termasuk, tetapi tidak terbatas pada, gelatin, kolagen dan elastin. MMP-9 dapat mendegradasi banyak protein ECM melalui pembelahan proteolitik untuk mengatur remodeling ECM. Selain itu, beberapa protein membran plasma adalah target dari MMP-9. MMP-9 secara khusus dapat membelah domain ekstraseluler dari beberapa protein permukaan sel untuk melepaskannya dari membran plasma. Di ruang ekstraseluler, beberapa polipeptida juga dapat dipecah oleh MMP-9. Selain itu, MMP-9 juga bisa membelah substrat intraseluler setelah diaktifkan di dalam sel.

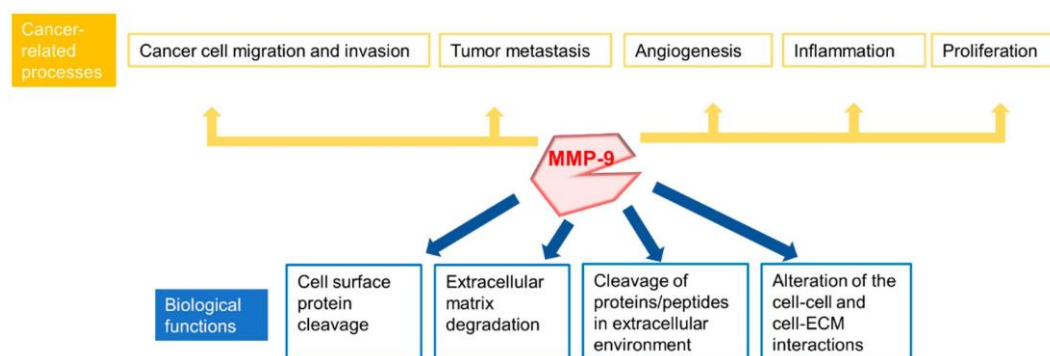


Gambar 2.5. Ilustrasi skematis tentang target MMP-9 di lingkungan ekstraseluler

(Huang, 2018)

Karena aktivitas pembelahan proteolitiknya di lingkungan ekstraseluler, MMP-9 terlibat dalam banyak proses biologis diantaranya degradasi proteolitik ECM, perubahan interaksi sel-sel dan sel-ECM, pembelahan protein permukaan sel dan pembelahan protein di lingkungan ekstraseluler. (Huang, 2018)

MMP-9 berperan dalam degradasi membran basal, karena membran basal mengandung kolagen, termasuk Kolagen Tipe IV, yang dapat didegradasi oleh MMP-9. Selama perkembangan tumor, penghancuran membran basal biasanya merupakan langkah penting yang mendukung invasi tumor dan metastasis.



Gambar 2.6. Ringkasan fungsi biologis MMP-9 dan beberapa proses terkait kanker melibatkan MMP-9 (Huang, 2018)

Beberapa proses penting karsinogenesis, yang meliputi, tetapi tidak terbatas pada, migrasi, invasi, metastasis, dan angiogenesis, terkait erat dengan lingkungan ekstraseluler. Karena MMP-9 memainkan peran penting dalam remodeling ECM dan pembelahan protein membran, ditemukan secara luas terkait dengan patologi kanker. Misalnya, MMP-9 telah ditemukan berperan dalam invasi tumor, metastasis

dan angiogenesis dan memediasi lingkungan mikro tumor. MMP-9 meningkatkan perkembangan dan perkembangan kanker dalam banyak kasus, dan juga dapat memainkan peran penekan dalam perkembangan kanker dalam beberapa kasus tertentu, seperti kanker usus besar terkait kolitis. Selain kanker, MMP-9 juga dikaitkan dengan patologi beberapa penyakit lain, termasuk penyakit autoimun dan penyakit kardiovaskular. Karena MMP-9 merupakan target penting untuk beberapa kanker dan beberapa penyakit terkait MMP-9 lainnya, penargetan MMP-9 memiliki nilai yang sangat tinggi. Pengembangan inhibitor MMP-9 merupakan bidang penelitian yang penting untuk mencapai tujuan ini. Sampai saat ini, belum ada inhibitor MMP-9 spesifik yang berhasil digunakan di klinik. (Huang, 2018)

Karena kesamaan di antara MMP yang berbeda, mencapai spesifisitas inhibitor MMP (termasuk inhibitor MMP-9) untuk menghindari efek di luar target terhadap MMP lain merupakan tantangan kuat untuk pengembangan inhibitor MMP. Banyak penelitian telah menemukan nilai MMP-9 sebagai biomarker potensial pada berbagai kanker. Beberapa kemajuan terbaru tentang eksplorasi MMP-9 sebagai biomarker pada kanker yang berbeda. Penelitian tentang biomarker kanker adalah bidang penelitian yang sangat penting. Biomarker kanker dapat memainkan peran penting dalam menentukan diagnosis dan prognosis kanker, memantau perkembangan penyakit, memprediksi kekambuhan penyakit, memantau dan memprediksi kemanjuran pengobatan, dan skrining kanker. MMP-9 merupakan biomarker potensial untuk beberapa jenis kanker. Ini dapat dieksplorasi sebagai biomarker seperti untuk keperluan diagnosis, pemantauan kemanjuran pengobatan, dan pemantauan perkembangan penyakit. (Huang, 2018)

Biomarker kanker merupakan salah satu aplikasi penelitian MMP-9 yang menjanjikan. Beberapa biomarker mungkin tidak memiliki spesifisitas yang cukup untuk kegunaan klinis ketika digunakan sebagai penanda tunggal. Penggunaan kombinasi biomarker merupakan salah satu strategi untuk meningkatkan spesifisitas biomarker. Untuk mencapai spesifisitas yang tinggi, MMP-9 juga dapat digunakan dalam kombinasi dengan biomarker kanker lainnya. Dalam beberapa tahun terakhir, ada banyak kemajuan dalam penelitian biomarker kanker tentang eksplorasi MMP-9 sebagai biomarker untuk berbagai jenis kanker. (Huang, 2018).

### **2.3.2 Hubungan MMP-9 dengan Kanker Kolorektal**

MMP-9 telah ditemukan berhubungan dengan invasi dan metastasis kanker. Tingkat ekspresi MMP-9 menunjukkan korelasi yang signifikan secara statistik dengan derajat histopatologi penyakit, stadium, potensi metastasis, potensi kekambuhan. Peningkatan serum MMP-9 berkorelasi dengan metastasis jauh dan penurunan angka kelangsungan hidup pasien KKR. Oleh sebab itu, MMP-9 memainkan peran penting dan sebagai indikator yang berguna untuk penilaian klinis perilaku biologis tumor dan prognosis pada pasien KKR. (Yang, 2014)

MMP-9 berperan dalam perkembangan dan progresifitas tumor pada KKR. Ekspresi MMP-9 lebih besar pada jaringan KKR dibandingkan pada jaringan normal. Peran prognostik ekspresi MMP-9 pada pasien KKR menemukan bahwa tingkat ekspresi MMP-9 terkait dengan prognosis pasien KKR, dan individu dengan ekspresi MMP-9 yang lebih tinggi memiliki kelangsungan hidup yang lebih buruk. (Liang, 2017)

Pada sebagian besar studi prognostik yang dilakukan sejauh ini, peningkatan ekspresi MMP yang telah dikaitkan dengan prognosis yang buruk. Secara umum, kehadiran MMP dalam sel tumor telah terbukti menjadi tanda prognostik pada kanker saluran pencernaan. Ekspresi MMP menunjukkan prognosis yang buruk pada kanker esofagus, lambung, kolorektal, dan pankreas. Pada kasus KKR peran MMP-9 sebagai tanda prognostik terbukti benar dalam dua penelitian sebelumnya dengan menunjukkan prognosis yang buruk. Selain itu, ekspresi MMP-9 pada tumor primer juga dikaitkan dengan proses metastasis. (Bendardaf R, 2010).

Selanjutnya pada penelitian Araujo *et al.*, 2014 dengan pewarnaan imunohistokimia MMP-9 dan karakteristik histopatologi pada pasien KKR ditemukan tidak signifikan secara statistik dalam uji Person menunjukkan penurunan angka kelangsungan hidup pasien karsinoma kolorektal. Namun, peningkatan level ekspresi MMP-2 dan MMP-9 telah dilaporkan terkait dengan lesi awal KKR yang berdiferensiasi baik, dibandingkan pada stadium akhir. Dalam penelitian tersebut juga ditemukan hubungan yang signifikan antara ekspresi MMP-2 dan MMP-9 dengan TNM stadium tinggi. (Araujo *et al.*, 2014).

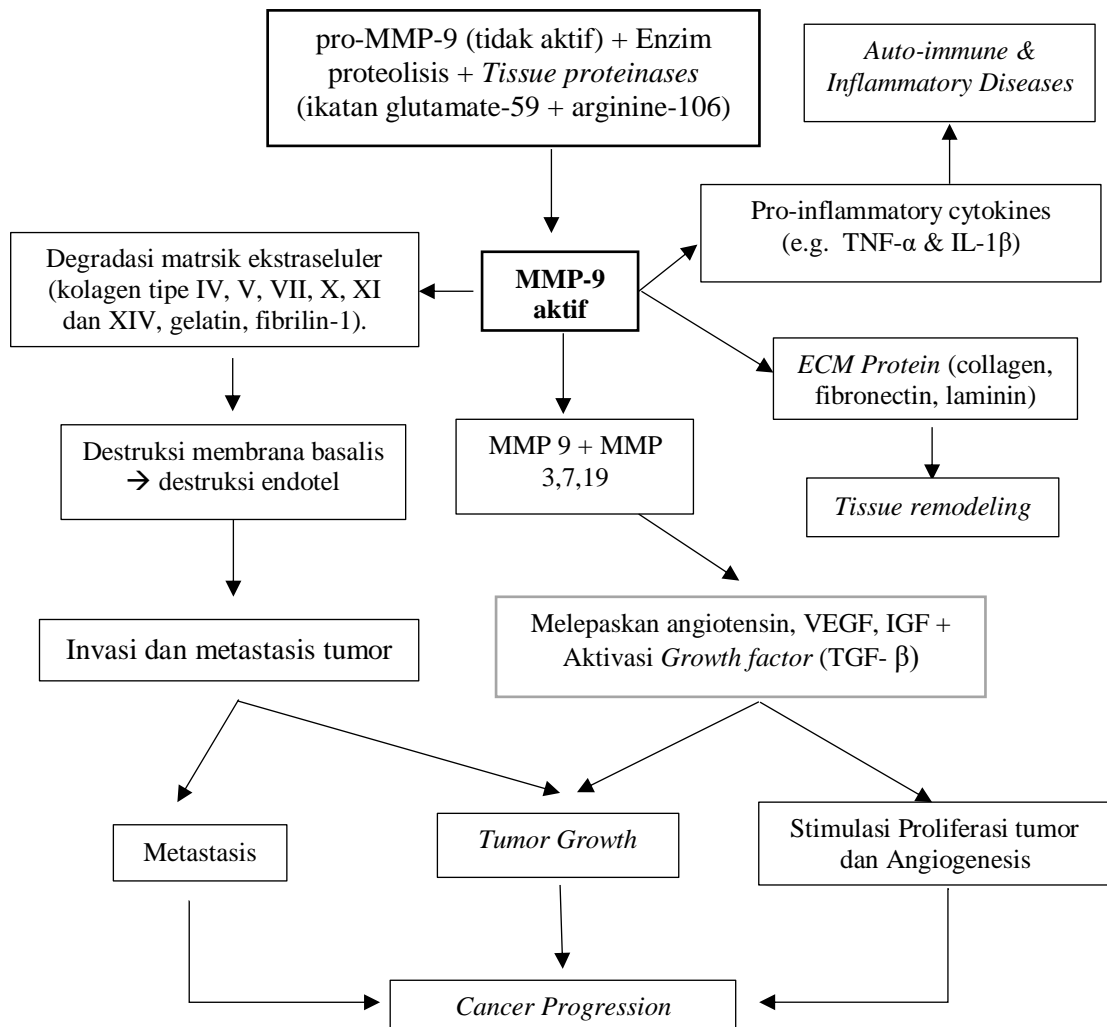
Proses invasi tumor juga melibatkan MMP-9 sebagai salah satu komponen ekstraseluler melalui efek proteolitik. Sejak diidentifikasi sebagai tumor tipe IV kolagenase, MMP-9 mendapat perhatian khusus sebagai penanda tumor potensial karena berperan utama dalam mendegradasi kolagen IV dan merupakan kunci yang berperan dalam proses invasi, metastasis, adesi sel, penyebaran, migrasi dan angiogenesis. (Shinta, 2019).



## BAB 3

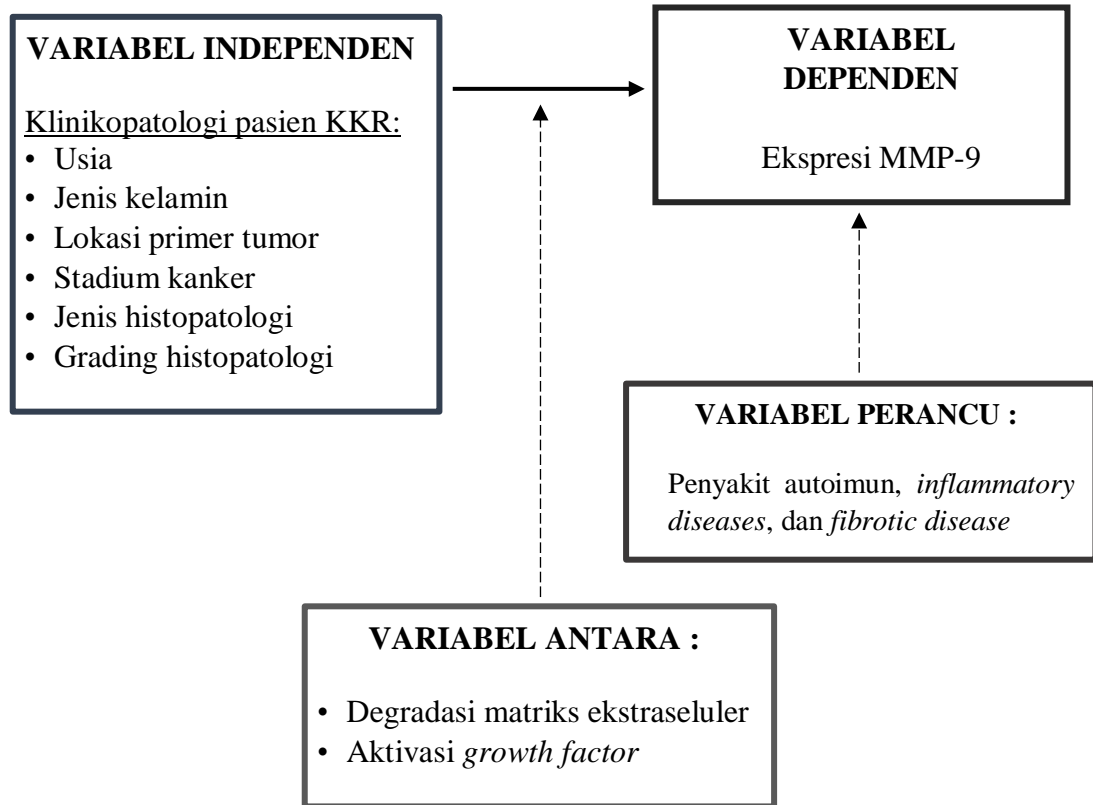
### KERANGKA TEORI DAN KONSEP

#### 3.1 Kerangka Teori



Gambar 3.1. Kerangka teori

### 3.2 Kerangka Konsep



Gambar 3.2. Kerangka konsep

### 3.3 Hipotesis Penelitian

Ada hubungan antara ekspresi MMP-9 dengan usia, jenis kelamin, lokasi tumor primer, stadium kanker, jenis histopatologi, dan grading histopatologi pada pasien kanker kolorektal.

## **BAB 4**

### **METODE PENELITIAN**

#### **4.1 Desain Penelitian**

Penelitian mengenai “ Hubungan ekspresi Matriks Metalloproteinase-9 (MMP-9) dengan klinikopatologi pada pasien kanker kolorektal ” merupakan uji observatif analitik menggunakan desain penelitian *cross sectional*.

#### **4.2 Waktu dan Lokasi Penelitian**

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan November 2021 sampai bulan Juni 2022 di RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo dan rumah sakit jejaring Universitas Hasanuddin yang berlokasi di Kota Makassar dengan estimasi:

1. Persiapan : 2 minggu
2. Pengumpulan data : 3 bulan
3. Pengolahan data : 2 minggu
4. Penulisan laporan : 2 minggu
5. Publikasi hasil : 1 bulan
6. Lama penelitian : 6 bulan

#### **4.3 Partisipan Penelitian**

##### **4.3.1 Populasi**

Populasi target pada penelitian ini adalah seluruh pasien kanker kolorektal menurut hasil histopatologi yang teregistrasi di RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo dan rumah sakit jejaring Universitas Hasanuddin.

Populasi terjangkau pada penelitian ini adalah seluruh pasien yang terdiagnosis kanker kolorektal berdasarkan hasil histopatologi yang teregistrasi di RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo dan rumah sakit jejaring Universitas Hasanuddin sejak bulan November 2021 sampai Juni 2022 yang bisa dilakukan pemeriksaan MMP-9 pada sediaan histopatologi di Laboratorium Patologi Anatomi RS. Wahidin Sudirohusodo dan rumah sakit jejaring Universitas Hasanuddin yang berlokasi di Kota Makassar.

#### **4.3.2 Sampel**

Sampel penelitian adalah perwakilan dari populasi terjangkau yang dipilih menggunakan metode *consecutive sampling* yaitu pemilihan sample dengan menetapkan subjek yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi penelitian dimasukkan dalam penelitian sampai kurun waktu tertentu, sehingga jumlah responden dapat terpenuhi.

Penentu kriteria sampel sangat membantu penelitian untuk mengurangi bias hasil penelitian, khususnya jika terdapat variabel-variabel yang ternyata mempunyai pengaruh variabel yang diteliti. Kriteria sampel dapat dibedakan menjadi dua yaitu inklusi dan eksklusi.

#### 4.4 Kriteria Inklusi

1. Pasien usia  $\geq 18$  tahun
2. Pasien yang terdiagnosis kanker kolorektal secara histopatologis yang akan dilakukan tindakan operasi, kemoterapi ataupun radioterapi.
3. Sampel pemeriksaan histopatologi dapat digunakan untuk pemeriksaan imunohistokimia.

#### 4.5 Kriteria Eksklusi

1. Pasien yang tidak bersedia untuk ikut dalam penelitian.
2. Data hasil pemeriksaan pasien yang tidak lengkap
3. Hasil pemeriksaan imunohistokimia yang tidak dapat terbaca.
4. Pasien dengan penyakit autoimun, *inflammatory diseases*, dan *fibrotic diseases*.

#### 4.6 Teknik Perhitungan Jumlah Sampel

Jumlah minimum dihitung berdasarkan rumus penelitian sebagai berikut :

$$n = \left[ \frac{Z^2 \alpha^2 PQ}{d^2} \right]$$

n = jumlah sampel

$Z\alpha$  = deviat baku normal untuk  $\alpha$  (ditetapkan  $Z\alpha = 1,96$ )

P = Proporsi penyakit atau keadaan yang akan dicari, berdasarkan pustaka

P = 0,086

Q = 1 – P

d = tingkat ketepatan absolut yang dikehendaki, d (ditetapkan d = 0,10)

Penetapan nilai proporsi didasarkan pada data *GLOBOCAN* 2020 adalah sebesar 8,6% (0,086). Sehingga, perhitungan sampel minimal:

$$n = \left[ \frac{1,96^2 \times 0,086 \times (1 - 0,086)}{0,10^2} \right]$$

$$n = 30,19$$

Berdasarkan hasil perhitungan sampel di atas, maka diketahui bahwa jumlah sampel minimum yang harus dipenuhi adalah **30 orang**  $\pm 10\%$  = 33 orang.

#### 4.7 Instrumen Penelitian

Alat penelitian Program untuk mencatat data yang dibutuhkan dari rekam medik pasien yang memenuhi kriteria inklusi yang berkaitan dengan demografi pasien. Imunohistokimia pada jaringan kanker untuk mengetahui ekspresi MMP-9. Slide untuk pemeriksaan histopatologi, *hemotoxylin eosine (HE)*, dan reagen antibodi monoklonal MMP-9 *genetex (Biocare Medical)*.

#### 4.8 Variabel Penelitian

- a. Variable independen: klinikopatologi pasien KKR : usia, jenis kelamin, lokasi primer tumor, stadium kanker, jenis histopatologi, dan grading histopatologi.
- b. Variabel dependen: Ekspresi MMP-9

- c. Variabel antara : Degradasi matriks ekstraseluler dan aktivasi *growth factor*
- d. Variabel perancu : Penyakit autoimun, *inflammatory diseases*, dan *fibrotic diseases*.

#### 4.9 Definisi Operasional

Tabel 4.1. Definisi operasional penelitian

No	Variabel	Definisi	Skala ukur	Hasil ukur
1	Usia	Usia pasien dengan menghitung ulang tahun terakhir pada saat datang ke Rumah sakit	Ordinal	a. 30-39 tahun b. 40-49 tahun c. 50-59 tahun d. 60-69 tahun e. 70-79 tahun
2	Jenis kelamin	Status biologis pasien	Nominal	a. Laki-laki b. Perempuan
3	Lokasi tumor primer	Lokasi tumor yang ditentukan dari hasil pemeriksaan <i>CT scan</i> ataupun kolonoskopi dan dikonfirmasi dengan temuan intra operatif.	Nominal	a. Kolon kanan b. Kolon kiri c. Rektum
4	Stadium kanker	Penilaian kanker kolorektal berdasarkan tingkatan stadium yaitu ukuran tumor (T), ada metastasis ke kelenjar limfe (N), dan Metastasis jauh (M).	Ordinal	a. Stadium 0 b. Stadium I c. Stadium II d. Stadium III e. Stadium IV
5	Jenis histopatologi	Hasil pengamatan slide histopatologi dari pemeriksaan sampel jaringan tumor pasien KKR yang dibaca oleh ahli patologi anatomi menggunakan alat mikroskop cahaya menurut ciri-ciri dan derajat anaplasia	Nominal	a. <i>Adenocarcinoma NOS</i> b. <i>Neuroendocrine tumour NOS</i> c. <i>Neuroendocrine carcinoma NOS</i> d. <i>Mixed neuroendocrine-non-</i>

		tumor berdasarkan klasifikasi WHO 2019.		<i>neuroendocrine neoplasm</i>
6	Grading histopatologi	Hasil pengamatan slide histopatologi dari pemeriksaan sampel jaringan tumor pasien KKR yang dibaca oleh ahli patologi anatomi menggunakan alat mikroskop cahaya yang dinilai berdasarkan arsitektur dan sitologi (contoh <i>pleomorfism</i> , <i>hiperkromatisme</i> , dan <i>produksi musin</i> )	Ordinal	a. <i>Low grade</i> b. <i>Moderate grade</i> c. <i>High grade</i>
7	Ekspresi MMP-9	Penilaian ekspresi protein MMP-9 secara imunohistokimia menggunakan <i>Mouse Monoclonal Anti-Human MMP-9 Antigen</i> , Genetex ( <i>Biocare Medical</i> ) yang dibaca oleh ahli patologi anatomi menggunakan alat mikroskop cahaya.	Ordinal	a. Negatif : 0-2 b. Positif : >2
8	Penyakit autoimun	Kondisi dimana sistem kekebalan tubuh terlalu aktif sehingga tubuh menyerang dan merusak jaringannya sendiri / sel normal, dimana kemampuan tubuh dalam melawan sel asing juga menurun sehingga rentan terhadap infeksi. seperti : <i>Rheumatoid arthritis</i> , <i>Systemic lupus erythematosus</i> , <i>Inflammatory bowel disease (IBD)</i> , <i>Multiple sclerosis</i> .	Nominal	a. Ada b. Tidak
9	<i>Inflammatory diseases</i>	Penyakit-penyakit akibat dari proses inflamasi di dalam tubuh dimana tubuh	Nominal	a. Ada b. Tidak



		merespon keberadaan patogen diikuti proses homeostasis. seperti : <i>Crohn's disease</i> , kolitis ulseratif, dan penyakit inflamasi lain.		
10	<i>Fibrotic diseases</i>	Penyakit-penyakit pada inflamasi kronis dimana terjadi akumulasi komponen matriks ekstraseluler yang berlebihan sehingga menyebabkan kerusakan hingga kematian jaringan, seperti : Tuberculosis, <i>cystic fibrosis</i> , <i>adult respiratory distress syndrome</i> (ARDS), asthma, <i>chronic obstructive pulmonary disease</i> (COPD), <i>idiopathic pulmonary fibrosis</i> .	Nominal	a. Ada b. Tidak

#### 4.10 Prosedur Penelitian

1. Peneliti mencari sediaan parafin blok pasien KKR yang telah dilakukan operasi dari bulan November 2021 sampai Juni 2022 di RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo dan rumah sakit jejaring Universitas Hasanuddin Makassar.
2. Parafin blok kemudian dikirim ke bagian Patologi Anatomi RS Universitas Hasanuddin Makassar. Pada sampel dilakukan prosedur pulasan IHK MMP-9 menggunakan antibodi *monoklonal MMP-9 genetex* melalui proses sebagai berikut :

- Blok paraffin dipotong menggunakan mikrotom *Leica 2125 RM* dengan ketebalan 3-4  $\mu\text{m}$ , kemudian direkatkan pada gelas objek yang telah dilapisi dengan *poly-L-lysine*.
- Celupkan kedalam *Waterbath*
- Tulis pada *slide* kode sesuai blok paraffin dengan pensil
- Panaskan *slide* diatas *Hot Plate* selama 1 jam
- Dinginkan slide lalu masukkan kedalam keranjang *slide*
- Deparafinasi ( Xylol I, Xylol II, Xylol III) masing-masing 5 menit
- Rehidrasi (Alkohol 96%, Alkohol 80%, Alkohol 70%), masing-masing selama 5 menit, lalu diuci air mengalir selama 5 menit
- Angkat dari air lalu masukkan *slide* kedalam larutan *Blocking Endogen Peroksida*, rendam selama 15 menit lalu dicuci dengan air mengalir selama 5 menit
- Masukkan keranjang berisi *slide* ke dalam *decloaking* yang berisi larutan *Antigen Retrieval Decloaking Chamber*, lalu letakkan *slide* pada *rack holder*
- Masukkan *rack holder* kedalam *decloaking*, lalu tutup
- Atur waktu yaitu selama 40 menit pada suhu 95 derajat.
- Dinginkan, dengan mengeluarkan *slide* dari *decloaking* dan disimpan pada suhu ruangan.
- Setelah dingin, cuci dalam larutan PBS 2x masing-masing selama 5 menit. Kemudian *slide* disusun pada baki *slide*

- Ambil satu per satu lalu tetesi *Background Sniper* lalu inkubasi selama 30 menit
- Buang larutan background sniper dengan cara ditiriskan pada tisu
- Tetesi Antibodi MMP-9 lalu inkubasi selama 1 jam pada suhu ruangan
- Tandai *slide* dengan memberi lingkaran sekitar jaringan
- Cuci PBS 2x selama 5 menit
- Tetesi Trekkie Universal lalu diamkan selama 30 menit
- Tiriskan pada tissue lalu tetesi *Trekkavidin-HRP* lalu didiamkan selama 30 menit
- Cuci PBS 2x dengan cara merendam *slide* selama 5 menit
- Sambil menunggu pencucian, buat larutan DAB dengan cara campurkan cromogen DAB 1 tetes + *Substrat buffer* 1 ml (dicampur dalam tabung bersih) lalu tetesi ke jaringan
- Amati jaringan jika sudah menunjukkan warna coklat, langsung direndam ke dalam air selama 5 menit
- Rendam dengan *hematoxylin Meyer* 5 menit
- Cuci air mengalir selama 5 menit
- Dehidrasi ( Alkohol 70%, Alkohol 80%, Alkohol 96%) masing-masing 5 menit
- *Clearing* ( Xylol I, Xylol II, Xylol III)
- Keringkan *slide* lalu tetesi dengan entelan lalu tutup dengan *deck glass*.
- Amati di Mikroskop

3. Pengumpulan data dari rekam medik untuk mencari data pasien berdasarkan variabel klinis dan hasil pemeriksaan histopatologi oleh ahli patologi anatomi.
4. Pencatatan dan pengumpulan data.
5. Analisis data.

#### **4.11 Pengumpulan Data**

##### **1. Data Primer**

Sampel diperoleh dengan memotong *slide* ketebalan 3-4  $\mu\text{m}$  dari blok paraffin dengan *slide* yang bermuatan positif. Penilaian protein MMP-9 secara imunohistokimia menggunakan *Mouse Monoclonal Anti-Human MMP-9 Antigen*, Genetex (*Biocare Medical*). Secara semikuantitatif, diamati dengan mikroskop cahaya binokuler merk *Olympus CX21* mulai dari pembesaran lemah (40x) sampai pembesaran kuat (400x). Penghitungan dilakukan pada seluruh sel tumor dimulai dari bagian tumor dengan ekspresi MMP-9 terkuat ke bagian pembesaran yang lebih lemah.

Sel yang mengekspresikan MMP-9 akan tampak berwarna coklat pada sitoplasma sel epitel ganas maupun stroma. Penilaian ekspresi MMP-9 dibuat berdasarkan analisis persentase sel tumor yang positif dan intensitas pewarnaan. Pada penggunaan *Immunoreactive Score* akan didapatkan berdasarkan persentase sel ganas yang menunjukkan overekspresi MMP-9 maka dibagi menjadi 4 skor (0-4) yaitu 0 (tidak terwarnai), 1 (1-5 % sel dari seluruh sel tumor), 2 (6-75% sel dari seluruh sel tumor), 3 (76-100% sel dari seluruh sel tumor). Berdasarkan intensitas

warna coklat sel-sel ganas yang menunjukkan overekspresi MMP-9 maka dibagi menjadi 4 skala (0-3) yaitu: 0 (negatif), 1 (lemah), 2 (sedang) dan 3 (kuat). Skor persentase dari sel tumor yang immunoreaktif kemudian dikalikan dengan skor intensitasnya, sehingga skor total didapatkan hasil : Nilai 0-2 = Negatif dan nilai > 2 = Positif.

## 2. Data sekunder

Data sekunder yang dikumpulkan dalam penelitian ini adalah data pasien KKR di RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo dan rumah sakit jejaring Universitas Hasanuddin yang telah dilakukan tindakan operasi sejak bulan November 2021 sampai bulan Juni 2022 yang dilakukan pemeriksaan MMP-9 pada sediaan histopatologi di Laboratorium Patologi Anatomi RS Universitas Hasanuddin Makassar.

Pengumpulan data ini dimaksudkan untuk menjadi pembanding dalam penetapan diagnosis maupun pendukung keterkaitan variabel penelitian. Variabel dari rekam medis yang diambil berupa data demografis dan klinis dari hasil pemeriksaan fisik dan pemeriksaan penunjang yaitu : usia, jenis kelamin, lokasi primer tumor, metastasis KGB, metastasis jauh, stadium kanker, jenis histopatologi, dan grading histopatologi.

#### **4.12 Pengolahan Data**

Menurut Moh Pabundu Tika (2005) sebelum melakukan analisis data, perlu dilakukan pengolahan data terlebih dahulu. Tahap pengolahan data dalam penelitian ini meliputi *editing*, *coding*, dan tabulasi.

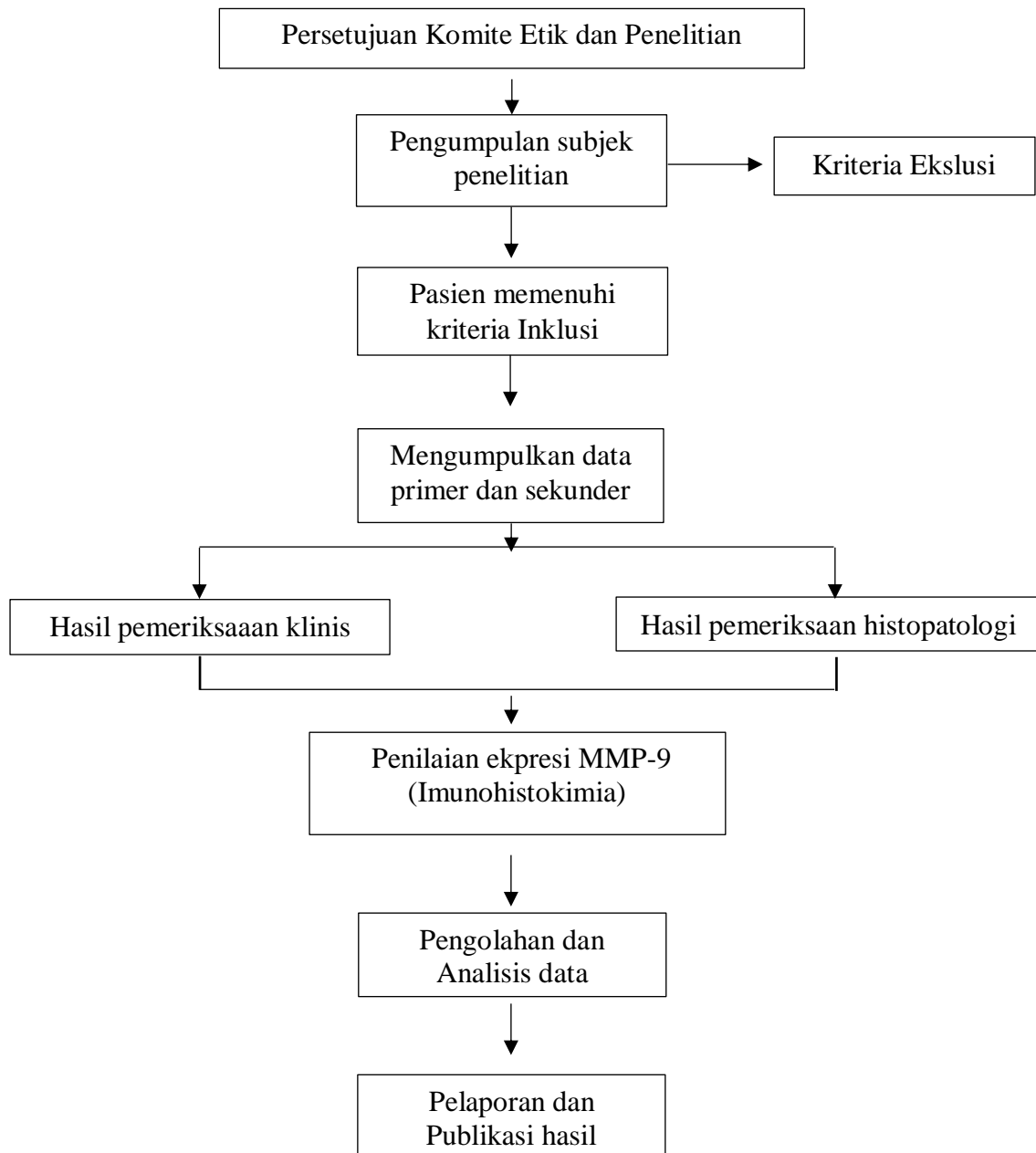
#### **4.13 Analisis Data**

Analisa univariat dengan mengetahui kategori untuk setiap variabel, kemudian peneliti akan menghitung frekuensi dan mencari persentasi pada setiap variabel. Analisis bivariat untuk mengetahui perbandingan antar variabel kategorik, analisa dengan *Chi-square test*. Nilai kemaknaan jika  $p < 0,05$ . Dalam penelitian ini analisis statistik dilakukan dengan menggunakan program SPSS versi 27.

#### **4.14 Etika Penelitian**

Sebelum penelitian dilaksanakan, peneliti terlebih dahulu meminta keterangan kelayakan etik (*Ethical clearance*) dari Komisi Etik Penelitian Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin dan RSUP dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar mengenai riset biomedis pada manusia.

#### 4.15 Alur Penelitian



Gambar 4.1. Alur penelitian

## **BAB 5**

### **HASIL PENELITIAN**

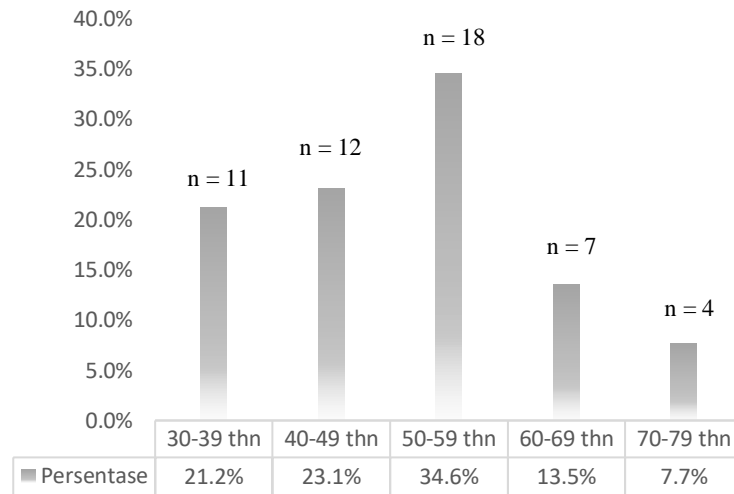
Penelitian ini merupakan penelitian studi analitik observatif dengan desain penelitian *cross sectional* untuk mengetahui hubungan ekspresi MMP-9 dengan klinikopatologi pada pasien Kanker Kolorektal di RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar dan rumah sakit jejaring Universitas Hasanuddin Makassar sejak bulan November 2021 sampai dengan Juni 2022. Total sampel yang terkumpul sebanyak 60 pasien yang dilakukan operasi KKR. 2 pasien diantaranya Hasil pemeriksaan imunohistokimia yang tidak dapat terbaca, sementara 6 pasien tidak memiliki data pemeriksaan yang lengkap sehingga sampel yang memenuhi kriteria inklusi sebanyak 52 pasien. Kemudian dilakukan pemeriksaan MMP-9 pada sediaan histopatologi di Laboratorium Patologi Anatomi rumah sakit Universitas Hasanuddin Makassar. Sampel ditentukan berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi. Kriteria inklusi meliputi pasien usia  $\geq 18$  tahun yang terdiagnosis kanker kolorektal secara histopatologis yang akan dilakukan tindakan operasi, kemoterapi ataupun radioterapi, serta sampel pemeriksaan histopatologi dapat digunakan untuk pemeriksaan imunohistokimia. Adapun kriteria eksklusi meliputi pasien yang tidak bersedia untuk ikut dalam penelitian, data hasil pemeriksaan pasien yang tidak lengkap, hasil pemeriksaan imunohistokimia yang tidak dapat terbaca, dan pasien dengan penyakit autoimun, *inflammatory diseases*, dan *fibrotic diseases*.



Variabel dari rekam medis yang diambil meliputi data demografis dan klinis dari hasil pemeriksaan fisik dan pemeriksaan penunjang seperti usia, jenis kelamin, lokasi tumor primer, stadium kanker, jenis histopatologi, dan grading histopatologi. Ekspresi MMP-9 dinilai berupa pewarnaan imunohistokimia pada jaringan kanker dan dinilai secara visual dengan menggunakan mikroskop cahaya kemudian dilakukan penghitungan skor (Histoskor) dengan cara menghitung distribusi (jumlah sel yang positif) dikalikan intensitas (area sel tumor yang terwarnai coklat). Slide meliputi pemeriksaan histopatologi, *hemotoxylin eosine (HE)*, dan reagen antibodi monoklonal MMP-9 *genetex (Biocare Medical)*.

### **5.1. Karakteristik Sampel Berdasarkan Usia**

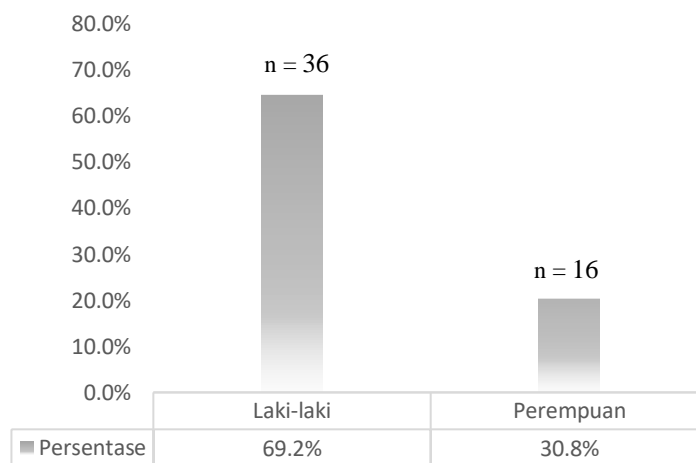
Pengelompokan karakteristik usia ditetapkan menjadi usia 30-39 tahun, 40-49 tahun, 50-59 tahun, 60-69 tahun, dan 70-79 tahun. Dimana sampel didominasi pada kelompok usia dengan rentang 50-59 tahun yaitu 18 orang dengan persentase 34,6%. Kemudian pasien dengan rentang usia 40-49 tahun yaitu 12 orang dengan persentase 23,1%, pasien dengan rentang usia 30-39 tahun yaitu 11 orang dengan persentase 21,2%, pasien dengan rentang usia 60-69 tahun yaitu 7 orang dengan persentase 13,5%, dan frekuensi usia paling sedikit adalah pada rentang 70-79 tahun yaitu 4 orang dengan persentase sebesar 7,7%. (Gambar 5.1)



Gambar 5.1. Karakteristik Sampel berdasarkan Usia

## 5.2. Karakteristik Sampel Berdasarkan Jenis Kelamin

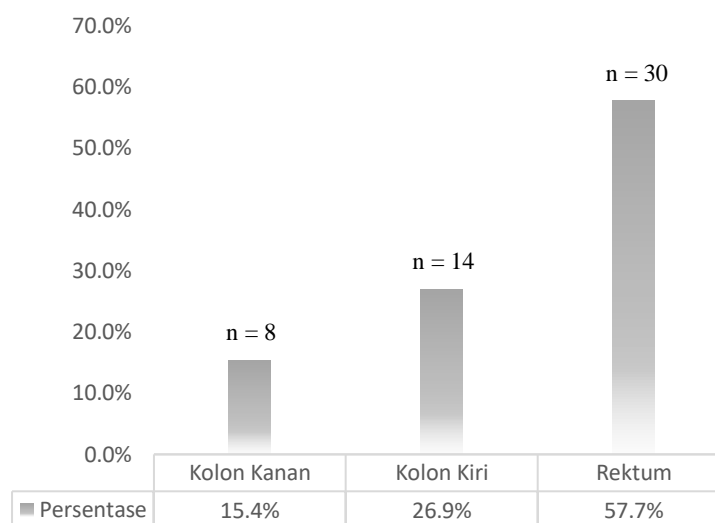
Berdasarkan karakteristik jenis kelamin, diketahui frekuensi pasien yang berjenis kelamin laki-laki lebih banyak dari perempuan. Pasien perempuan berjumlah 16 orang dengan persentase 30,8 % dan laki-laki berjumlah 36 orang dengan persentase 69,2 %. (Gambar 5.2)



Gambar 5.2. Karakteristik Sampel berdasarkan Jenis Kelamin

### 5.3. Karakteristik Sampel Berdasarkan Lokasi Tumor Primer

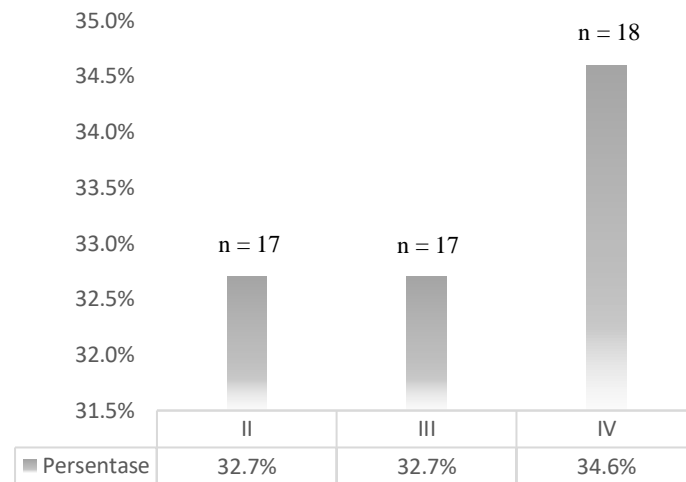
Pada lokasi tumor primer, frekuensi terbanyak adalah lokasi tumor pada rektum yaitu 30 pasien (57,7%). Kemudian sebanyak 14 pasien (26,9%) yang lokasi tumornya ditemukan di kolon kiri, dan frekuensi terkecil adalah pasien yang lokasi tumornya di kolon kanan yaitu 8 orang (15,4%). (Gambar 5.3)



Gambar 5.3. Karakteristik Sampel berdasarkan Lokasi Tumor Primer

### 5.4. Karakteristik Sampel Berdasarkan Stadium Kanker

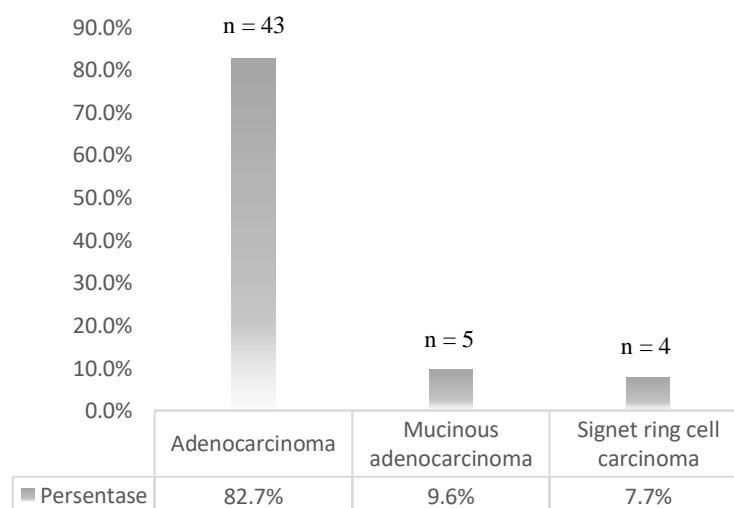
Pada stadium kanker, distribusi hampir merata meliputi kanker stadium II sebanyak 17 pasien (32,7%), kemudian yang mengalami kanker stadium III sebanyak 17 pasien (32,7%), dan yang paling banyak adalah yang mengalami kanker stadium IV yaitu 18 pasien (34,6%). (Gambar 5.4)



Gambar 5.4. Karakteristik Sampel berdasarkan Stadium Kanker

### 5.5. Karakteristik Sampel Berdasarkan Jenis Histopatologi

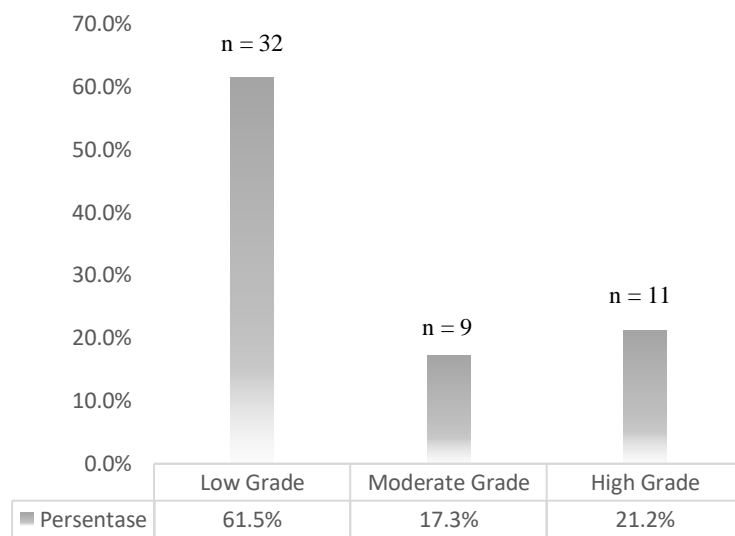
Berdasarkan klasifikasi jenis histopatologi, frekuensi terbanyak yaitu Adenocarcinoma 43 pasien (82,7%), kemudian diikuti Mucinous adenocarcinoma 5 pasien (9,6%), dan Signet ring cell carcinoma 4 pasien (7,7%). (Gambar 5.5).



Gambar 5.5. Karakteristik Sampel berdasarkan Jenis Histopatologi

### 5.6. Karakteristik Sampel Berdasarkan Grading Histopatologi

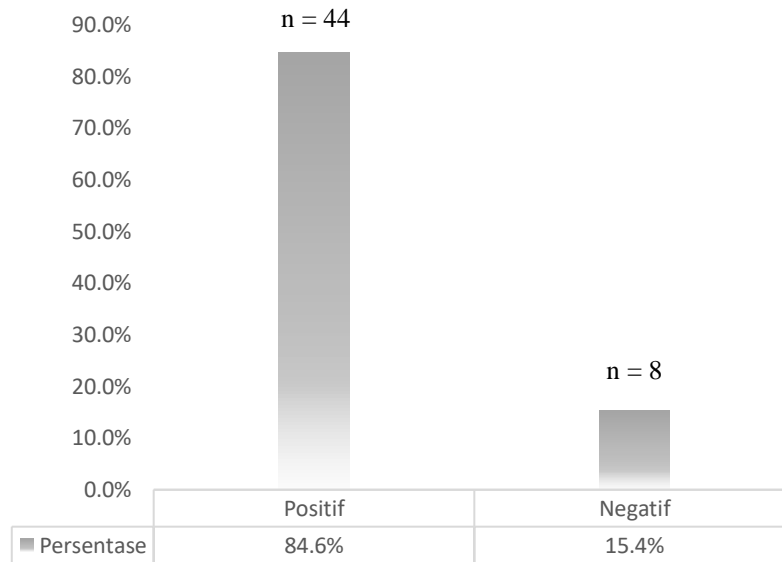
Grading histopatologi ditemukan frekuensi terbanyak adalah *low grade* yaitu 32 pasien (61,5%), kemudian *high grade* yaitu 11 pasien (21,2%), dan *moderate grade* yaitu 9 pasien (17,3%). (Gambar 5.6)



Gambar 5.6. Karakteristik Sampel berdasarkan Grading Histopatologi

### 5.7. Karakteristik Sampel Berdasarkan Ekspresi MMP-9

Serta pada variabel MMP-9, frekuensi positif sebanyak 44 pasien dengan persentase 84,6%. Sedangkan frekuensi negatif sebanyak 8 pasien dengan persentase 15,4%. (Gambar 5.7)



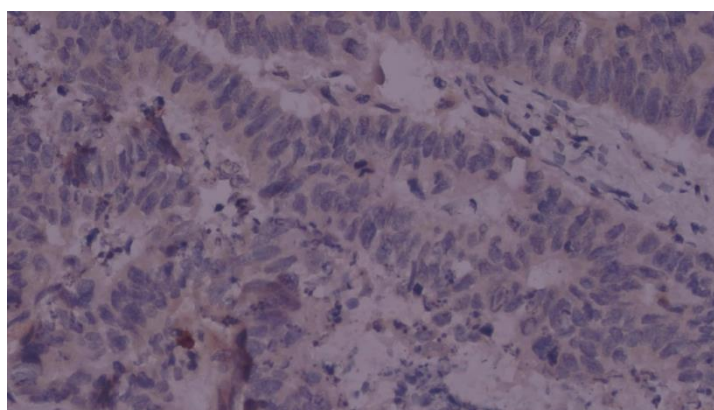
Gambar 5.7. Karakteristik Sampel berdasarkan Ekspresi MMP-9

Selain itu, penelitian ini juga memperlihatkan perbedaan hasil gambaran patologi anatomi berdasarkan ekspresi MMP-9 dengan nilai intensitas yang digambarkan yaitu 0 sebagai negatif, 1 lemah, 2 sedang, dan 3 kuat. Sedangkan Persentase berupa 0 dengan range 0%, 1 dengan persentase 1-5%, 2 dengan persentase 6-75%, dan 3 dengan persentase 76-100%. Skor total dihasilkan dengan hasil kali antara intensitas dan persentase dimana 0-2 berarti negatif sedangkan hasil > 2 berarti positif, sebagaimana diterangkan pada tabel 5.1 di bawah ini.

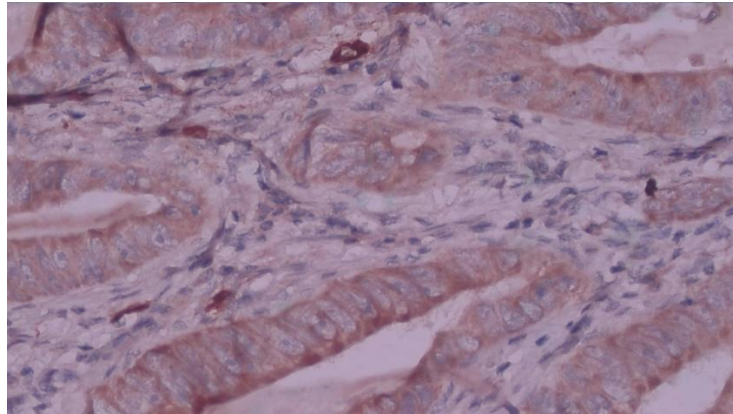
Tabel 5. 1 Interpretasi ekspresi MMP-9 pada pemeriksaan histopatologi

<b>Intensitas</b>	0	Negatif
	1	Lemah
	2	Sedang
	3	Kuat
<b>Persentase</b>	0	0%
	1	1-5%
	2	6-75%
	3	76-100%
<b>Skor total</b>	<b>Intensitas x persentase</b>	
	Negatif	0- 2
	Positif	> 2

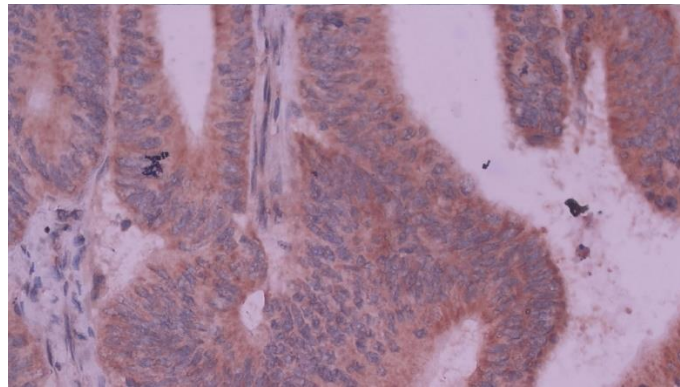
Berikut contoh perbandingan hasil ekspresi MMP-9 pada tiga jenis sampel berbeda yang ditunjukkan pada Gambar 5.8, Gambar 5.9, dan Gambar 5.10.



Gambar 5.8. Intensitas 1 (lemah) x persentase 1 (1-5%). Skor total = 1 (negatif)  
sedikit gambaran warna cokelat (Gambaran Ekspresi MMP-9 rendah)



Gambar 5.9. Intensitas 2 (sedang) x persentase 2 (6-75%). Skor total = 4 (positif),  
memberikan gambaran warna cokelat muda  
(Gambaran Ekspresi MMP-9 sedang)



Gambar 5.10. Intensitas 3 (kuat) x persentase 3(76-100%). Skor total = 9 (positif),  
memberikan gambaran warna cokelat tua  
(Gambaran Ekspresi MMP-9 tinggi)



### 5.8. Hubungan Ekspresi MMP-9 dengan Klinikopatologi Pasien KKR

Tabel 5. 2. Analisis Hubungan Klinikopatologi dengan Ekspresi MMP-9 menggunakan *Pearson Chi-Square test*

Variabel	MMP-9				Total		p
	Positif		Negatif		n	%	
	n	%	n	%			
<b>Usia (tahun)</b>							
30-39	8	18.2	3	37.5	11	21.2	<sup>a</sup> 0.661
40-49	11	25.0	1	12.5	12	23.1	
50-59	15	34.1	3	37.5	18	34.6	
60-69	6	13.6	1	12.5	7	13.5	
70-79	4	9.1	0	0.0	4	7.7	
Total	44	100.0	8	100.0	52	100.0	
<b>Jenis kelamin</b>							
Laki-laki	31	70.5	5	62.5	36	69.2	<sup>a</sup> 0.654
Perempuan	13	29.5	3	37.5	16	30.8	
Total	44	100.0	8	100.0	52	100.0	
<b>Lokasi tumor primer</b>							
Kolon kanan	5	11.4	3	37.5	8	15.4	<sup>a</sup> 0.016
Kolon kiri	10	22.7	4	50.0	14	26.9	
Rektum	29	65.9	1	12.5	30	57.7	
Total	44	100.0	8	100.0	52	100.0	
<b>Stadium kanker</b>							
Stadium II	10	22.7	7	87.5	17	32.7	<sup>a</sup> 0.001
Stadium III	16	36.4	1	12.5	17	32.7	
Stadium IV	18	40.9	0	0.0	18	34.6	
Total	44	100.0	8	100.0	52	100.0	
<b>Jenis histopatologi</b>							
Adenocarcinoma	36	81.8	7	87.5	43	82.7	<sup>a</sup> 0.543
Mucinous adenocarcinoma	5	11.4	0	0.0	5	9.6	
Signet ring cell carcinoma	3	6.8	1	12.5	4	7.7	
Total	44	100.0	8	100.0	52	100.0	
<b>Grading histopatologi</b>							
High grade	11	25.0	0	0.0	11	21.2	<sup>a</sup> 0.049
Moderate grade	9	20.5	0	0.0	9	17.3	
Low grade	24	54.5	8	100.0	32	61.5	
Total	44	100.0	8	100.0	52	100.0	

<sup>a</sup> *Chi-Square Test*

Berdasarkan hasil analisis pada tabel 5.2 di atas, diperoleh hubungan antara ekspresi MMP-9 dengan klinikopatologi (usia, jenis kelamin, lokasi tumor, stadium kanker, jenis histopatologi, dan grading hispatologi). Pada variabel usia tidak terdapat hubungan signifikan terhadap ekspresi MMP-9 dimana nilai pada analisis *Chi-Square test* tidak ada hubungan signifikan secara statistik nilai  $p : 0,661$  ( $p > 0,05$ ). Untuk variabel jenis kelamin baik laki-laki dan perempuan tidak terdapat hubungan signifikan terhadap ekspresi MMP-9 dimana pada analisis *Chi-Square test* juga tidak ada hubungan signifikan secara statistik nilai  $p : 0,654$  ( $p > 0,05$ ). Selanjutnya pada variabel lokasi tumor primer dari hasil analisis *Chi-Square test* ditemukan ada hubungan signifikan terhadap ekspresi MMP-9 secara statistik dengan nilai  $p : 0,016$  ( $p < 0,05$ ). Begitupula pada variabel stadium kanker ditemukan ada hubungan signifikan terhadap ekspresi MMP-9 dengan nilai pada *Chi-Square test* secara statistik dengan nilai  $p : 0,001$  ( $p < 0,05$ ).

Variabel jenis histopatologi dari hasil analisis *Chi-Square test* didapatkan hasil tidak ada hubungan signifikan secara statistik dengan nilai  $p : 0,543$  ( $p > 0,05$ ). Sementara itu pada variabel grading histopatologi ditemukan ada hubungan signifikan terhadap ekspresi MMP-9 dimana nilai analisis *Chi-Square test* secara statistik dengan nilai  $p : 0,049$  ( $p < 0,05$ ).

## **BAB 6**

### **PEMBAHASAN**

Kanker kolorektal (KKR) merupakan salah satu keganasan yang paling umum dan mematikan, mempengaruhi jutaan orang di seluruh dunia setiap tahun. KKR biasanya asimtomatik pada tahap awal, dan sebagian besar pasien dengan KKR dengan demikian memiliki penyakit stadium lanjut dan/atau metastasis luas pada saat diagnosis (Simon, 2016). Tanda-tanda subklinis KKR awal tidak dapat dilihat, dan surveilans endoskopi saat ini merupakan metode standar emas yang direkomendasikan untuk mendiagnosis KKR. Namun, sifat invasif, biaya, dan komplikasi kolonoskopi membuat penggunaannya tidak realistis untuk skrining KKR pada orang yang tampaknya sehat. Skrining dan deteksi dini KKR tetap menjadi tantangan klinis, menyoroti kebutuhan untuk mengidentifikasi biomarker baru untuk membantu diagnosis KKR. Meskipun tes invasif seperti kolonoskopi dapat membantu mengurangi insiden dan mortalitas KKR, penggunaan klinis rutin kolonoskopi tetap terbatas karena sifatnya yang invasif (Hull *et al.*, 2020). Sehingga sangat dibutuhkan untuk mengidentifikasi biomarker yang tepat dan non-invasif untuk membantu baik diagnosis dini maupun manajemen klinis KKR.

Stadium saat diagnosis merupakan faktor prognostik penting untuk kanker usus besar dan rektum. Ketika KKR terdeteksi pada stadium IV, tingkat kelangsungan hidup 5 tahun pasien hanya mencapai 10%, sedangkan pada pasien yang didiagnosis pada stadium I lebih dari 90%, sehingga sangat penting untuk deteksi dini KKR (Brenner *et al.*, 2014). *Gold standar* untuk skrining dan diagnosis

KKR yaitu kolonoskopi + biopsi, namun hampir separuh dari pasien tidak menerima karena ketidaknyamanan kolonoskopi (Z. Liu *et al.*, 2014). Uji biomarker serum yang lebih nyaman dan kurang invasif daripada sigmoidoskopi fleksibel atau kolonoskopi masih menjadi pemeriksaan penunjang yang lebih dapat diterima untuk diagnosis KKR (Wilson *et al.*, 2012).

Beberapa biomarker yang sering digunakan yaitu Matriks Metalloproteinase (MMP), CEA, dan CA19-9 dimana semuanya diregulasi meningkat pada pasien KKR dibandingkan dengan kontrol yang sehat, serta berhubungan erat dengan gambaran klinikopatologis pada pasien KKR. Biomarker serum ini menunjukkan nilai diagnostik relatif baik, menurut analisis kurva ROC (*Receiver Operating Characteristic*) yang menyajikan hubungan sensitivitas & spesifitas dan dapat mewakili penanda diagnostik yang berguna untuk KKR. MMP ini merupakan matriks yang terdiri dari keluarga endopeptidase yang mengandung zinc dengan implikasi penting dalam proses fisiologis dan patologis (Morales-Vásquez *et al.*, 2020). Remodeling dan degradasi matriks ekstraseluler oleh MMP adalah mekanisme penting yang terlibat dalam angiogenesis tumor, invasi, dan metastasis. Beberapa subtype MMP termasuk MMP-9 yang telah diidentifikasi sebagai biomarker potensial keganasan (Lee *et al.*, 2019).

Selain itu, MMP mengatur stabilitas matriks ekstraseluler dimediasi oleh keseimbangan aktivitas proteolitik antara aktivasi dan inhibisi endogen yaitu *tissue inhibitors of metalloproteinases* (TIMP). TIMP-1 dan TIMP-2 telah terbukti mempengaruhi berbagai keadaan patologis termasuk mengatur inisiasi tumor, invasi, dan pertumbuhan metastasis (Cabral-Pacheco *et al.*, 2020). Studi klinis yang

sedang berlangsung telah mengkonfirmasi relevansi klinis peningkatan kadar jaringan, dan dalam beberapa kasus kadar serum, dari beberapa MMP dan TIMP pada penyakit seperti kanker lambung, kanker payudara, glioma ganas, dan kanker prostat. Namun, nilai klinis MMP dan TIMP yang bersirkulasi dalam diagnosis dan pengobatan pasien dengan KKR saat ini masih kontroversial (Huang *et al.*, 2021). MMP yang mampu mendegradasi membran basal dan protein matriks ekstraseluler dan molekul adhesi ekstraseluler, memainkan peran penting dalam perkembangan dan penyebaran kanker (Koskensalo *et al.*, 2012).

Matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) merupakan anggota penting dari keluarga matrix metalloproteinase dan dianggap terlibat dalam invasi dan metastasis sel kanker. MMP-9 berkorelasi dengan metastasis lymphonodus, dan peningkatan ekspresinya mungkin merupakan indikator prognostik yang merugikan bagi pasien KKR (Yang *et al.*, 2014). MMP-9 juga dikenal sebagai gelatinase B, telah dibuktikan melalui studi imunohistokimia yang menunjukkan ekspresi berlebih pada KKR, jika dibandingkan dengan mukosa yang sehat. Studi klinis menunjukkan bahwa pasien KKR dapat dikelompokkan berdasarkan serum MMP-9 menjadi kohort berisiko rendah atau tinggi dan secara signifikan meningkatkan kadar serum MMP-9 terdeteksi pada pasien KKR (Hurst *et al.*, 2007). Studi *case-control* yang dilakukan oleh Dragutinovic *et al.* menunjukkan bahwa dibandingkan dengan kelompok kontrol, pasien dengan KKR memiliki peningkatan kadar serum MMP-9 dan deteksi MMP-9 dalam serum mungkin menjadi penanda yang berguna untuk diagnosis KKR (Dragutinović *et al.*, 2011). Sebuah studi klinis yang diterbitkan pada tahun 2011 menyarankan bahwa serum MMP-9 adalah penanda

diagnostik yang berguna untuk KKR (Mroczko *et al.*, 2010). Namun, kegunaan diagnostik serum MMP-9 untuk KKR masih belum pasti, karena beberapa peneliti menemukan MMP-9 tidak berguna untuk diagnosis KKR. (Liang & Chang, 2018).

Ekspresi MMP-9 dinilai tidak hanya pada sel tumor tetapi pada sel-sel stroma di sekitar sel tumor, seperti sel-sel inflamatori dan non inflamatori baik makrofag, limfosit maupun neutrofil serta sel fibroblast dan sel endotel pembuluh darah (Eka Shinta *et al.*, 2019). Pada sitoplasma makrofag yang membuktikan keterlibatan *Tumor Associated Macrophage* (TAM) dalam menghasilkan MMP-9, tetapi efek terhadap progresivitas tumor tergantung dari fenotipnya yang ditentukan oleh sitokin yang dihasilkan (Ansari *et al.*, 2013). Ekspresi MMP-9 yang cukup kuat dijumpai pada sel stroma termasuk pada sel tumor. Hal ini menjelaskan bahwa MMP-9 dihasilkan oleh sel tumor dan sel stroma karena adanya interaksi antara sel tumor dengan lingkungan sekitarnya berpengaruh terhadap aktivasi dan produksi MMP-9 (Kostova *et al.*, 2012; Yang *et al.*, 2015).

Pada penelitian kami, ingin memperlihatkan hubungan ekspresi MMP-9 dengan klinikopatologi pada pasien KKR. Variabel klinikopatologi yang dinilai meliputi usia, jenis kelamin, lokasi tumor primer, stadium kanker, jenis histopatologi, dan grading histopatologi.

### **6.1. Analisis Hubungan Ekspresi MMP-9 dengan Usia**

Pada variabel usia, didapatkan bahwa kelompok usia 50-59 tahun adalah yang terbanyak yaitu 34.6%. Pada analisis selanjutnya ditemukan tidak ada hubungan antara usia dengan ekspresi MMP-9 ( $p=0,661$ ). Sejalan dengan penelitian

kami, studi Zhang *et al.*, 2012 memperlihatkan tidak ada kaitan antara usia dengan ekspresi MMP-9, namun pada penelitian tersebut hasil positif ekspresi MMP-9 terbanyak pada kelompok usia  $\geq 60$  tahun yaitu sebanyak 37 pasien dibandingkan kelompok usia  $< 60$  tahun hanya 32 pasien (Zhang *et al.*, 2012). Hal serupa juga didapatkan dari studi Yang B *et al.*, 2014 bahwa tidak ditemukan keterkaitan antara usia dengan ekspresi MMP-9 ( $p=0.557$ ) meskipun pasien dengan ekspresi positif MMP-9 lebih banyak pada usia  $\geq 58$  tahun dibanding kelompok  $< 58$  tahun yaitu 26 berbanding 21 kasus positif MMP-9. (Yang *et al.*, 2014). Hal ini berbeda dengan Studi Otero-Estevés *et al.*, 2015 dimana ditemukan ada hubungan yang signifikan antara kelompok usia dengan kadar MMP-9 ( $p<0.001$ ) namun kelompok usia terbanyak yaitu kelompok usia  $\leq 49$  tahun diikuti kelompok usia  $\geq 60$  tahun dan terakhir yang paling rendah kelompok usia 50-59 tahun. (Otero-Estévez *et al.*, 2015).

Telah banyak studi yang mencari dan mengungkapkan keterkaitan antara usia dengan progresifitas sel kanker, hal ini karena usia dianggap berpengaruh dengan perkembangan sel tumor akibat adanya mutasi genetik, instabilitas genomik, dan alterasi epigenetik yang rentan terjadi semakin bertambahnya usia. Bukti dari studi epidemiologi dan model kanker akibat radiasi menunjukkan bahwa paparan radiasi selama usia dewasa-tua (*midlife*) dapat meningkatkan risiko lebih besar daripada paparan pada usia lain. Bukti ini sejalan dengan penelitian yang menunjukkan bahwa proses yang memicu kanker dapat meningkat pada usia yang lebih tua. Kerentanan terhadap kanker juga telah ditunjukkan untuk paparan radiasi ultraviolet selama paruh baya (Shuryak *et al.*, 2010; White *et al.*, 2014). Selain itu,

berbagai penelitian saat ini juga menunjukkan bahwa transformasi ke keganasan memerlukan perubahan terkait usia dalam lingkungan mikroseluler atau jaringan meliputi peningkatan peradangan atau penurunan fungsi kekebalan yang memilih mutasi yang mendukung proliferasi dan penyebaran sel yang diubah (Degregori, 2013; Naylor *et al.*, 2013). Pada orang yang lebih tua, cenderung memiliki kondisi penyakit kronis dan berbagai penyakit infeksi yang berpotensi meningkatkan mutasi genetik seperti penggunaan tembakau, kurangnya aktivitas fisik, gizi buruk, konsumsi alkohol berlebihan, infeksi kronis tertentu (Prasad *et al.*, 2012).

Prevalensi beberapa kondisi dan penyakit kronis yang dapat dicegah, seperti obesitas dan diabetes, cenderung meningkat selama usia paruh baya, dan beberapa dari kondisi ini telah dikaitkan dengan peningkatan risiko kanker dan penurunan kelangsungan hidup kanker. Meskipun generasi dewasa saat ini berusia 45-64 tahun diharapkan hidup lebih lama daripada generasi sebelumnya, adanya kondisi kronis seperti obesitas dan diabetes, dan cenderung menilai kesehatan mereka lebih rendah daripada generasi sebelumnya pada usia yang sama (King *et al.*, 2013). Usia tua memiliki prevalensi risiko kanker yang tinggi dan angka kejadian mulai meningkat pada berbagai jenis kanker. (White *et al.*, 2014).

## **6.2. Analisis Hubungan Ekspresi MMP-9 dengan Jenis Kelamin**

Hasil analisis variabel jenis kelamin dari penelitian kami didapatkan bahwa pasien dengan jenis kelamin laki-laki memiliki frekuensi terbanyak yaitu 36 pasien (69,2%) dibandingkan jenis kelamin perempuan 16 pasien (30,8%) dimana pada analisis *Chi-Square test* tidak ada hubungan signifikan secara statistik nilai  $p : 0,654$



( $p > 0,05$ ). Sejalan dengan penelitian kami menurut studi Yang B *et al.*, 2014 memperlihatkan dari seluruh sampel didominasi oleh laki-laki yaitu 44 berbanding 24 pasien pada perempuan, data analisis selanjutnya tidak ditemukan hubungan antara jenis kelamin dengan ekspresi MMP-9 ( $p = 0,383$ ) (Yang B *et al.*, 2014). Begitupula studi Huang X *et al.*, 2021 yang menilai sejumlah biomarker termasuk MMP-9 dimana data didominasi oleh pria sebesar 79 orang dibanding 33 perempuan dengan nilai rerata kadar MMP-9 tidak jauh berbeda yaitu 284.98 ng/ml pada pria dan 288.81 ng/ml pada perempuan. Hasil dari penelitian tersebut menunjukkan tidak ada perbedaan nilai kadar MMP-9 berdasarkan jenis kelamin ( $p = 0,941$ ). (Huang *et al.*, 2021).

Penelitian lain oleh Zhang *et al.*, 2012 menunjukkan bahwa hasil ekspresi MMP-9 positif didominaasi oleh kelompok jenis kelamin laki-laki yaitu 43 orang berbanding 26 orang pada perempuan sedangkan persentase ekspresi MMP-9 negatif pada laki-laki 93 orang dan dan 54 orang pada perempuan. (Zhang *et al.*, 2012). Berbeda dengan penelitian lain oleh studi Esteves OO *et al.*, 2015 memperlihatkan bahwa kelompok jenis kelamin perempuan justru lebih banyak yaitu 58.9% dibanding laki-laki, dimana rerata-standar deviasi kadar MMP-9 pada laki-laki lebih tinggi yaitu kadar  $512 \pm 312$  ng/ml dibandingkan pada perempuan  $442 \pm 234$  ng/ml dengan analisis korelasi terdapat hubungan yang signifikan antara jenis kelamin terutama laki-laki dengan ekspresi MMP-9 yang tinggi ( $p = 0,013$ ) (Otero-Estévez *et al.*, 2015).

Beberapa faktor jenis kelamin laki-laki cenderung banyak mengalami kanker kolorektal yaitu karena perilaku hidup yang malas bergerak menimbulkan obesitas, konsumsi alkohol, dan kebiasaan merokok. Peningkatan asupan makanan dan kadar jaringan adiposa visceral sebagai komponen aktif hormonal dari total lemak tubuh dapat mendorong perkembangan kanker kolorektal melalui sekresi sitokin proinflamasi, yang mengarah ke inflamasi. situasi di usus besar dan rektum, resistensi insulin dan modulasi enzim metabolik seperti adiponektin atau lektin (Martinez-Useros & Garcia-Foncillas, 2016). Selain itu, merokok dan konsumsi alkohol juga telah terbukti meningkatkan risiko KKR. Dalam kasus konsumsi alkohol, asetaldehida (metabolit utama etanol) telah digambarkan sebagai karsinogenik dengan meningkatkan risiko pengembangan kanker kolorektal di antara populasi tergantung pada polimorfisme enzim metabolisme alkohol (Pöschl & Seitz, 2004). Kemudian, merokok dengan kandungan tembakau dapat meningkatkan kemungkinan menderita KKR hingga 10,8% karena kandungan karsinogen yang tinggi seperti nikotin dimana metabolitnya dapat dengan mudah mencapai usus dan menghasilkan polip (Botteri *et al.*, 2008; Cross *et al.*, 2014).

### **6.3. Analisis Hubungan Ekspresi MMP-9 dengan Lokasi Tumor Primer**

Berdasarkan hasil perhitungan dalam penelitian kami, lokasi tumor primer mayoritas dijumpai pada daerah rektum, dimana analisis hubungan lokasi tumor primer dengan ekspresi MMP-9 ditemukan ada hubungan yang signifikan nilai  $p : 0,016$  ( $p < 0,05$ ). Hal ini berbeda dengan penelitian oleh Studi Huang *et al.*, 2021 tumor yang berasal dari kolon sebesar 61 pasien (54.46%) sementara hanya 51

pasien (45.54%) saja yang berasal dari rektum. Pada studi tersebut dibandingkan delapan biomarker dan hanya biomarker MMP-7 yang signifikan terdapat hubungan antara lokasi tumor primer dengan kadar biomarker ( $p=0.035$ ) dimana hasil signifikan lebih tinggi pada tumor primer asal kolon meskipun tidak disebutkan secara jelas bagian kolon mana yang dimaksud. Sementara biomarker MMP-9 dalam penelitian tersebut didapatkan hasil tidak signifikan ( $p=0.214$ ) dimana kadar MMP-9 asal dari kolon 293.83 ng/ml dan 272.78 ng/ml asal dari rektum. Sejalan dengan penelitian tersebut, Zhang *et al* 2012 juga memperlihatkan tidak ada hubungan signifikan antara lokasi tumor dengan ekspresi MMP-9 dimana ekspresi MMP-9 positif banyak dijumpai berturut-turut pada lokasi kolon kanan, diikuti rektum dan kolon kiri masing-masing 29, 24, dan 16 orang dengan nilai  $p > 0.05$  (Zhang *et al.*, 2012). Sementara itu, penelitian lain oleh Esteves OO *et al.*, 2015 juga memperlihatkan tidak ada perbedaan signifikan antara lokasi tumor primer terhadap ekspresi MMP-9 meskipun sejalan dengan penelitian kami dimana lokasi tumor lebih banyak dijumpai di bagian distal kolon sebanyak 96 pasien, 41 pasien di proksimal kolon dan 37 di kedua bagian kolon (distal+proksimal). (Otero-Estévez *et al.*, 2015).

Secara anatomis lokasi primer tumor KKR berasal dari tiga kompartemen yaitu kolon proksimal, kolon distal dan rektum. Namun secara embriologi, KKR berasal dari dua tipe yaitu sisi kanan (*right-sided*) yang berasal dari midgut meliputi dua per tiga proksimal colon transversum, colon ascending, dan caecum. sedangkan sisi kiri (*left sided*) berasal dari struktur embriologi hindgut terdiri dari sepertiga distal colon transversum, fleksura splenikus, colon descending, colon sigmoid, dan

rectum. Lebih mudahnya batas antara *left-sided* dengan *right sided* yaitu fleksura splenikus dimana KKR sekitar 63% terjadi di kolon kiri termasuk area rektum (Hemminki *et al.*, 2010; Stintzing *et al.*, 2017).

Lokasi tumor primer ini menggambarkan jenis mikrobiom dominan yang sangat berbeda antara kiri dan kanan. Bila di sebelah kanan didominasi oleh *Prevotella*, *Pyramido-bacterium*, *Selenomonas* dan *Peptostreptococcus* sedangkan di sebelah kiri didominasi oleh mikrobiom *Fusobacterium*, *eschericia-shigella*, *Leptotrichia* dan *Helicobacter pylori*. Perbedaan ini menggambarkan perbedaan ekspresi gen di mukosa kolon dimana pada beberapa kluster berkaitan dengan ekspresi gen pro-inflamasi yang bisa berkembang menjadi KKR (Petrelli *et al.*, 2017). Dengan progresivitas dari rektum dan kolon kiri oleh karena mikrobiom yang lebih aktif dan mengekspresikan gen pro-inflamasi, menyebabkan tumor yang lebih progresif sehingga terjadi peningkatan ekspresi dari MMP-9.

Sebelah kanan sering dijumpai mutasi gen KRAS, BRAF, TGF $\beta$ 2. Sedangkan di sebelah kiri lebih banyak TP53, APC, KRAS dan sering dijumpai penyimpangan kromosom seperti delesi lengan 8p, 17p (pada mutasi gen TP53), dan aneuploid. Dengan lebih aktifnya mutasi pada kolon kiri, mengakibatkan tumor lebih progresif, sehingga menyebabkan peningkatan degradasi matrsik ekstraseluler yang sejalan dengan peningkatan ekspresi MMP-9. Bila dibandingkan sebelah kanan, sebelah kiri sering dijumpai instabilitas kromosom sekitar 75% kasus (Shen *et al.*, 2015). Sebagai contoh, mutasi KRAS pada codon 12/13 *wild-type* pada KKR *left-sided* berkaitan dengan *progression free survival* (PFS) dan *overall survival* (OS) yang lebih panjang dibanding tipe *right-sided*. Namun studi meta-analisis ini

justro memperlihatkan bahwa OS pada pasien KKR *right-sided* yang mengalami mutasi justro memiliki prognosis yang lebih buruk (Stintzing *et al.*, 2017).

Mutasi APC, KRAS, SMAD4 dan TP53 sering dijumpai pada KKR *left-sided*. Beberapa faktor yang menentukan progresifitas tumor pada KKR yaitu faktor angiogenik seperti *vascular endothelial growth factor* (VEGF-1) dan *cyclooxygenase-2* (COX-2) dimana overekspresi ini memperlihatkan semakin cepat mengalami metastasis dimana sering dijumpai signifikan tinggi pada KKR *left-sided* (Bendardaf *et al.*, 2008; Nasir *et al.*, 2004). Lokasi ini juga memperlihatkan kemungkinan metastasis yang berbeda dimana *right-sided* cenderung metastasis ke peritoneum sedangkan *left-sided* ke hati dan paru-paru (Missiaglia *et al.*, 2014). Meskipun demikian tipe *right-sided* menunjukkan struktur histopatologi *high-grade* dan memiliki stadium tumor tinggi pada awal presentase dibanding sebelah kiri. Tipe *left-sided* juga dikaitkan dengan perilaku diet rendah serat, riwayat merokok, dan kelebihan alkohol (Shen *et al.*, 2015).

#### **6.4. Analisis Hubungan Ekspresi MMP-9 dengan Stadium Kanker**

Variabel keempat pada penelitian kami yaitu stadium kanker didapatkan hasil terbanyak adalah pasien yang mengalami kanker stadium IV yaitu 18 pasien (34,6%) dimana pada analisis *Chi-Square test* memperlihatkan ada hubungan signifikan antara stadium kanker dengan ekspresi MMP-9 dengan nilai  $p : 0,001$  ( $p < 0,05$ ). Hal ini berbeda dengan studi oleh Huang X *et al.*, 2021 memperlihatkan prevalensi tertinggi yaitu pada kelompok stadium III sebesar 37 pasien (33.04%) lalu stadium IV 36 (32.14%), stadium II 34 (30.36%), dan paling sedikit yaitu

stadium I hanya 5 (4.46%). Analisis selanjutnya terhadap kadar MMP-9 dan biomarker lain diperlihatkan bahwa tidak ada hubungan yang signifikan antara stadium dengan kadar MMP-9 karena justru kadar lebih tinggi pada kelompok stadium I-II yaitu 312.98 ng/ml berbanding 272.78 ng/ml pada kelompok stadium III-IV. Hal ini tentu berbeda dengan kadar biomarker TIMP-1 yang justru sebaliknya yaitu signifikan ada hubungan ( $p < 0.001$ ) dan jauh lebih tinggi kadarnya pada kelompok stadium III-IV 268.62 ng/ml dibanding kelompok stadium I-II yang rendah yaitu 142.78 ng/ml (Huang *et al.*, 2021).

Dalam studi oleh Fakhri & Agus 2017 menunjukkan adanya ekspresi MMP-9 positif pada 28 dari 35 sampel, yaitu pada kelompok sampel dengan kedalaman invasi T1 dan T2 sebanyak 35,7% (10 sampel) dan kelompok sampel dengan kedalaman invasi T3 dan T4 sebanyak 64,3% (18 sampel). Dalam studi tersebut, ditunjukkan bahwa semakin dalam invasi sel KKR, semakin besar presentase ekspresi MMP-9, meskipun secara statistik hubungannya tidak bermakna ( $p > 0.05$ ) (Fakhri & Agus, 2017). Kemudian penelitian lain oleh Bendardaf *et al.*, memperlihatkan hubungan antara ekspresi MMP-9 dengan metastasis pada KKR. Dalam studi tersebut, dari keseluruhan 359 sampel penelitian, 70% sampel dengan ekspresi MMP-9 positif menunjukkan adanya metastasis sedangkan 30% sisanya pada sampel yang tidak ada metastasis (Bendardaf *et al.*, 2010).

Studi lain oleh Eka Shinta *et al* 2019., sebanyak 47 sampel dari total 50 sampel menunjukkan hasil ekspresi MMP-9 positif. Dalam studi tersebut, penulis menunjukkan adanya korelasi bermakna antara kedalaman invasi tumor (T) dengan ekspresi MMP-9 ( $p = 0.002$ ) (Eka Shinta *et al.*, 2019). Sementara studi oleh Zhang

*et al 2012* menilai stadium TNM beserta masing-masing variabel Tumor, lymph nodus dan metastasis menunjukkan hanya kriteria metastasis yang signifikan berhubungan dengan ekspresi MMP-9 dimana terdapat perbedaan signifikan antara metastasis jauh (M1) dengan tanpa metastasis (M0) dimana paling banyak dijumpai ekspresi MMP-9 positif pada M1 yaitu 46 orang berbanding 23 orang pada M0. Namun secara umum pada kriteria TNM yang dibedakan menjadi dua kelompok yaitu kelompok stadium I-II dan II-IV justru tidak ada hubungan signifikan terhadap ekspresi MMP-9 meskipun paling banyak dijumpai ekspresi positif pada kelompok std III-IV yaitu 50 berbanding 19 orang pada stadium I-II (*Zhang et al., 2012*).

Perbedaan stadium kanker terhadap ekspresi terjadi karena MMP-9 jelas mempengaruhi dan memiliki kemampuan mendegradasi matriks ekstraseluler, matriks metaloproteinase lain, dan plasminogen, serta melepaskan dan mengaktivasi *growth factor*. Sel kanker merangsang sel inang di sekitarnya untuk menghasilkan MMP-9 yang dapat mendegradasi kolagen seperti kolagen tipe IV, V, VII, IX dan X. Kolagen tipe IV sangat banyak pada membran basal dan merupakan penyusun penting dari membran basal yang melapisi sel endotel vaskular sebagai *barrier* terhadap invasi dan metastasis tumor (*Chu et al., 2012*). Selain itu, MMP telah dinyatakan sebagai diagnostik potensial dan biomarker prognostik pada beberapa jenis kanker dengan berbagai cara seperti pemeliharaan aktivasi pro-enzim dan transkripsi. Penghambatan fungsi MMP dilakukan oleh tissue inhibitor of metalloproteinase (TIMP) yang dibagi menjadi empat kelompok

TIMP-1,-2,-3 dan -4. Ketidakseimbangan antara aktivasi dan penghambatan MMP memainkan peran penting dalam patofisiologi kanker (Mondal *et al.*, 2020).

Matriks ekstraseluler telah lama dianggap memiliki peran penting dalam perkembangan kanker dimana interaksi antara sel-sel ini dan komponen matriks sangat penting untuk transformasi sel serta karsinogenesis. Sel kanker mengeluarkan berbagai agen seperti interferon, interleukin dan faktor pertumbuhan serta induktor MMP ekstraseluler yang merangsang sel inang di sekitarnya untuk menghasilkan MMP yang diperlukan untuk sel tumor (Jabłońska-Trypuć *et al.*, 2016). Ekspresi MMP awal dalam sel tumor membantu dalam remodeling matriks ekstraseluler dan melepaskan faktor pertumbuhan yang terikat membran untuk meletakkan lingkungan mikro untuk tumorigenesis. Peran MMP-9 dalam angiogenesis, metastasis dan invasi kanker telah diidentifikasi. MMP-9 juga bertanggung jawab untuk kelangsungan hidup dan penyebaran sel kanker. Sel kanker bersifat seperti kelenjar parakrin yaitu mensekresi interleukin, interferon, faktor pertumbuhan dan induktor MMP ekstraseluler, merangsang sel inang di sekitarnya untuk menghasilkan MMP yang dibutuhkan. MMP yang disekresikan oleh sel normal dapat diikat pada permukaan sel kanker lalu digunakan oleh sel tumor dan terlibat dalam semua langkah selama karsinogenesis (Y. Liu *et al.*, 2015).

### **6.5. Analisis Hubungan Ekspresi MMP-9 dengan Jenis Histopatologi**

Hasil pemeriksaan histopatologi pada pasien KKR merupakan pemeriksaan *gold standard* yang sangat penting dalam menegakkan diagnosis dan dari penelitian



yang kami dapatkan, jenis histopatologi terbanyak adalah *adenocarcinoma* yaitu 43 orang (82.7%) dimana pada analisis *Chi-Square test* tidak ada hubungan signifikan secara statistic, nilai  $p : 0,543$  ( $p > 0,05$ ). Penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan di RSUP Sanglah Bali-Indonesia, memperlihatkan bahwa jenis histopatologi terbanyak yaitu tipe *adenocarcinoma not otherwise specified* (NOS) yaitu sebesar 118 orang (97.5%) dibanding *mucinous adenocarcinoma* hanya 3 orang (2.5%) (Gunasekaran et al., 2019). Hal ini sesuai hipotesis bahwa lesi awal pada kolon yang memiliki riwayat *chron's disease* cenderung sering bertransformasi menjadi *adenocarcinoma* (NOS) dimana angka kejadian ini diperkirakan 20% dari penderita *chron's disease* (Brunicadi et al., 2017). Ekspresi MMP-9 diperlihatkan digunakan untuk menentukan tingkat kedalaman invasi adenokarsinoma kolorektal invasif, metastasis ke *lymphodus*, dan metastasis jauh, meskipun tidak ada korelasi dengan lokasi tumor dan status differensiasi (Fakhri & Agus, 2017; Chu et al., 2012). Belum ada studi yang membedakan ekspresi MMP-9 dengan jenis kanker kolorektal berbagai jenis kanker kolorektal.

Studi lain oleh Esteves OO *et al.*, 2015 memperlihatkan tipe histologi terbagi menjadi dua yaitu tubular dan tubulovillous/villous dimana didominasi oleh tipe tubular dengan kadar MMP-9 lebih tinggi pada kelompok tubulovillous/villous yaitu rerata-SD  $780 \pm 420$  ng/ml dibanding kelompok tubular  $667 \pm 359$  ng/ml meskipun tidak ada perbedaan yang signifikan. Kemudian pada temuan kolorektal ditemukan ada tiga jenis yaitu *no-neoplasia* sebesar 338 pasien, *Non-advanced adenomas* sebesar 121 pasien, dan *advanced neoplasia* sebesar 57 pasien. Temuan ini cukup memperlihatkan perbedaan rerata MMP-9 yang mana paling tinggi pada

kelompok *advance neoplasia* dengan rerata 712 ng/ml dibanding *Non-advanced adenomas* sebesar 668 ng/ml dan *no-neoplasia* sebesar 642 ng/ml. Pada tipe *Advanced neoplasia* terbagi menjadi dua yaitu *advanced adenomas* dan *cancer*, dimana pada tipe *advanced adenomas* memiliki rerata MMP-9 tertinggi yaitu 722 dengan hubungan yang signifikan ( $p=0.029$ ) (Otero-Estévez *et al.*, 2015).

#### **6.6. Analisis Hubungan Ekspresi MMP-9 dengan Grading Histopatologi**

Grading histopatologi merupakan salah satu informasi yang sangat penting diketahui dari hasil pemeriksaan histopatologi pasien KKR. Selain untuk diagnosis, penting juga diketahui untuk menentukan terapi yang tepat, serta sebagai salah satu faktor prognostik. Dalam penelitian kami, didapatkan grading histopatologi terbanyak adalah *low-grade* berjumlah 32 pasien (61,5%), diikuti *high-grade* sebanyak 11 pasien (21,2%), dan terendah adalah *moderate-grade* 9 pasien (17,3%). Pada analisis dengan *Chi-Square tes* didapatkan bahwa ada hubungan signifikan grading histopatologi terhadap ekspresi MMP-9 dengan nilai  $p : 0,049$  ( $p < 0,05$ ). Hasil ini sejalan dengan studi Yang B *et al.*, 2014 yang juga didominasi oleh *low-grade* yaitu 32 pasien dimana 23 diantaranya positif MMP-9, kemudian *mederate-grade* 19 pasien dengan 14 diantaranya positif MMP-9, dan *high-grade* 17 pasien dengan 10 diantaranya positif MMP-9, namun pada penelitian tersebut tidak ditemukan hubungan yang signifikan (Yang B *et al.*, 2014). Sementara pada penelitian lain Zhang *et al.*, 2012 ditemukan ada hubungan yang signifikan antara grading histopatologi terhadap ekspresi MMP-9 yaitu pada kelompok *undifferentiated/high-grade* semakin menunjukkan persentase ekspresi MMP-9

positif yang tinggi yaitu 21 orang (48.8%) berbanding 22 orang ekspresi MMP-9 negatif dengan nilai  $p=0.005$  interpretasi signifikan. Meskipun pada kelompok *well-moderate* ditemukan banyak ekspresi MMP-9 positif yaitu 47 pasien namun dari segi persentase sangat rendah bila dibandingkan dengan temuan ekspresi MMP-9 negatif yaitu 126 pasien atau 27.2% berbanding 72.8% masing-masing ekspresi MMP-9 positif vs negatif. MMP-9 sebagai enzim dapat memiliki peran permisif terhadap lingkungan mikroseluler dan terhadap metastasis tumor. Kadar MMP-9 yang tinggi dikaitkan dengan risiko tinggi dari rekurensi kanker yang lebih tinggi (Zhang *et al.*, 2012).

Berbeda dengan penelitian kami, studi oleh Huang *et al.*, 2021 justru didapatkan hasil didominasi oleh *moderate-grade* yaitu 98 pasien (87.5%) kemudian *High-grade* 12 pasien (10.71%), serta *low-grade* hanya ada 2 pasien (1.79%). Studi analisis lanjutan terhadap kadar MMP-9 ditemukan bahwa kategori *low-moderate* yang digabung memiliki rerata ekspresi MMP-9 lebih tinggi yaitu 286.81 ng/ml dibanding pada *high-grade* 267.71 ng/ml dengan uji korelasi tidak ada hubungan. Namun biomarker lain yaitu kadar MMP-7 signifikan terdapat hubungan dimana lebih tinggi pada kategori *high-grade* yaitu 19.69 ng/ml dibanding 13.62 ng/ml pada tipe *low-moderate grade* ( $p=0.039$ ) (Huang *et al.*, 2021). Secara teori pada tipe *High-grade* dengan tipe *poorly* atau *undifferentiated* memiliki ekspresi MMP-9 yang tinggi, namun pada penelitian kami justru sebaliknya. Hal ini salah satunya bisa disebabkan karena sebaran data yang tidak normal.

Pada akhirnya penelitian ini memperlihatkan ada hubungan yang signifikan secara statistik antara ekspresi MMP-9 dengan lokasi tumor primer, stadium kanker, dan grading histopatologi pada pasien KKR. Hasil ini tentunya ada yang sejalan dan ada juga yang berbeda dengan penelitian kami sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai sebaran datanya. Hal inilah yang menjadi salah satu keterbatasan dari penelitian kami karena kebanyakan pasien KKR yang datang ke rumah sakit adalah stadium lanjut dimana sudah terjadi metastasis jauh ke organ lain sehingga perlu adanya penyuluhan tentang bagaimana mengetahui secara dini dan pentingnya kesadaran serta dorongan para penderita KKR agar lebih dini untuk datang berobat ke fasilitas kesehatan yang tersedia.

Selain itu, dibutuhkan juga alat skrining non-invasif untuk diagnosis lebih awal untuk membantu skrining kolonoskopi yang masih dianggap tindakan invasif. MMP-9 diharapkan dapat dijadikan skrining melalui perannya dalam proses angiogenesis, invasi, dan metastasis pada KKR, meskipun masih memiliki sensitivitas sekitar 82% dan spesifisitas 46%. Ekspresi MMP-9 ditemukan lebih tinggi kadar dan ekspresinya pada jaringan KKR dibandingkan pada jaringan normal. Peran prognostik ekspresi MMP-9 pada pasien KKR menemukan bahwa pasien KKR dengan ekspresi MMP-9 yang lebih tinggi memiliki kelangsungan hidup yang lebih buruk. Sehingga MMP-9 dapat menjadi salah satu indikator yang berguna untuk penilaian klinis perilaku biologis tumor dan prognosis pada pasien KKR (Huang *et al.*, 2021). Penelitian lebih lanjut mengenai perbandingan biomarker lain juga dibutuhkan untuk melihat skrining yang terbaik seperti untuk tujuan diagnosis ataupun evaluasi keberhasilan terapi pada KKR.

## **BAB 7**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **7.1 Kesimpulan**

1. Tidak ada hubungan yang signifikan antara ekspresi MMP-9 dengan usia pada pasien kanker kolorektal di Makassar.
2. Tidak ada hubungan yang signifikan antara ekspresi MMP-9 dengan jenis kelamin pada pasien kanker kolorektal di Makassar.
3. Ada hubungan yang signifikan antara ekspresi MMP-9 dengan lokasi tumor primer pada pasien kanker kolorektal di Makassar.
4. Ada hubungan yang signifikan antara ekspresi MMP-9 dengan stadium kanker pada pasien kanker kolorektal di Makassar.
5. Tidak ada hubungan yang signifikan antara ekspresi MMP-9 dengan jenis histopatologi pada pasien kanker kolorektal di Makassar.
6. Ada hubungan yang signifikan antara ekspresi MMP-9 dengan grading histopatologi pada pasien kanker kolorektal di Makassar.

#### **7.2 Saran**

1. MMP-9 memiliki peran penting dalam invasi dan metastasis KKR sehingga dapat dipertimbangkan sebagai salah satu biomarker potensial serta menjadi indikator yang berguna untuk skrining awal, penilaian klinis perilaku biologis tumor dan prognosis pasien.

2. *Tissue inhibitors of metalloproteinases* (TIMP) dapat dijadikan sebagai pilihan terapi KKR karena perannya dalam mengatur proses inisiasi tumor, invasi, dan pertumbuhan metastasis agar terjadi keseimbangan aktivitas proteolitik antara aktivasi MMP-9 dan inhibisi endogen.
3. Penelitian ini dapat dijadikan dasar untuk penelitian selanjutnya dan perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan jumlah sampel yang lebih besar dan waktu penelitian yang lebih lama.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Akkoca, Ayşe Neslin, *et al.* "TNM and Modified Dukes staging along with the demographic characteristics of patients with colorectal carcinoma." *International journal of clinical and experimental medicine* 7.9 (2014): 2828.
- Allemani, Claudia, *et al.* "Global surveillance of cancer survival 1995–2009: analysis of individual data for 25 676 887 patients from 279 population-based registries in 67 countries (CONCORD-2)." *The Lancet* 385.9972 (2015): 977-1010.
- Ansari MA, Shaikh S, Muteeb G, Rizvi D, Shakil S, Alam A, Tripathi R, Ghazal F, Rehman A, Ali SZ, Pandey AK, Ashraf GM. Role of Matrix Metalloproteinases in Cancer. In: Ashraf GM, Sheikh IA, editors. *Advanced in Protein Chemistry*. USA: OMICS group ebook. 2013; 4-10.
- Bendardaf, R., Buhmeida, A., Hilska, M., Laato, M., Syrjänen, S., Syrjänen, K., Collan, Y., & Pyrhönen, S. (2010). MMP-9 (gelatinase B) expression is associated with disease-free survival and disease-specific survival in colorectal cancer patients. *Cancer Investigation*, 28(1), 38–43. <https://doi.org/10.3109/07357900802672761>
- Bendardaf, R., Buhmeida, A., Hilska, M., Laato, M., Syrjänen, S., Syrjänen, K., Collan, Y., & Pyrhönen, S. (2008). VEGF-1 Expression in Colorectal Cancer is Associated with Disease Localization, Stage, and Long-term Disease-specific Survival. *Anticancer Research*, 28(6B).

- Botteri, E., Iodice, S., Bagnardi, V., Raimondi, S., Lowenfels, A. B., & Maisonneuve, P. (2008). Smoking and colorectal cancer: a meta-analysis. *JAMA*, *300*(23), 2765–2778. <https://doi.org/10.1001/JAMA.2008.839>
- Bourboulia, Dimitra, and William G. Stetler-Stevenson. "Matrix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs): Positive and negative regulators in tumor cell adhesion." *Seminars in cancer biology*. Vol. 20. No. 3. Academic Press, 2010.
- Brenner, H., Kloor, M., & Pox, C. P. (2014). Colorectal cancer. *The Lancet*, *383*(9927), 1490–1502. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)61649-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)61649-9)
- Brown, Gordon T., and Graeme I. Murray. "Current mechanistic insights into the roles of matrix metalloproteinases in tumour invasion and metastasis." *The Journal of pathology* *237.3* (2015): 273-281.
- Brunnicadi FC, Andersen DK, Billiar TR, Dunn DL, Hunter JG, Pollock RE. Schwartz's principles of surgery. 8<sup>th</sup> ed. New York: The McGraw – Hill Companier. 2017;1073 – 1075.
- Cabral-Pacheco, G. A., Garza-Veloz, I., Rosa, C. C. D. La, Ramirez-Acuña, J. M., Perez-Romero, B. A., Guerrero-Rodriguez, J. F., Martinez-Avila, N., & Martinez-Fierro, M. L. (2020). The Roles of Matrix Metalloproteinases and Their Inhibitors in Human Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, *21*(24), 1–53. <https://doi.org/10.3390/IJMS21249739>
- Cross, A. J., Boca, S., Freedman, N. D., Caporaso, N. E., Huang, W. Y., Sinha, R., Sampson, J. N., & Moore, S. C. (2014). Metabolites of tobacco smoking and colorectal cancer risk. *Carcinogenesis*, *35*(7).



<https://doi.org/10.1093/CARCIN/BGU071>

Chu D, Zhao Z, Zhao Y, Li Y, Li J, Zheng J, *et al.* Matrix metalloproteinase-9 is associated with relapse and prognosis of patients cancer. *Ann Surg Oncol.* 2012; 19: 318-25.

Decock, J., Robert Paridaens, and S. Ye. "Genetic polymorphisms of matrix metalloproteinases in lung, breast and colorectal cancer." *Clinical genetics* 73.3 (2008): 197-211.

Degregori, J. (2013). Challenging the axiom: does the occurrence of oncogenic mutations truly limit cancer development with age? *Oncogene*, 32(15), 1869–1875. <https://doi.org/10.1038/ONC.2012.281>

Deryugina, Elena I., and James P. Quigley. "Tumor angiogenesis: MMP-mediated induction of intravasation-and metastasis-sustaining neovasculature." *Matrix Biology* 44 (2015): 94-112.

Dharmaji, A.B., Lusikooy, R.E., "Analisis Perbedaan Derajat Kelangsungan Hidup (Survival Rate) Adenokarsinoma Kolorektal Di RSUP. Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar". Tesis. Makassar (2020) : Universitas Hasanuddin

Dharmayanti, Sri, *et al.* "Imunoekspresi Lgr5 dan E-cadherin sebagai Faktor Prediksi Metastasis ke Kelenjar Getah Bening Regional pada Adenokarsinoma Kolorektal." *Majalah Patologi Indonesia* 28.1 (2019): 50-55.

Dragutinović, V. V., Radonjić, N. V., Petronijević, N. D., Tatić, S. B., Dimitrijević, I. B., Radovanović, N. S., & Krivokapić, Z. V. (2011). Matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) and -9 (MMP-9) in preoperative serum as

- independent prognostic markers in patients with colorectal cancer. *Molecular and Cellular Biochemistry* 2011 355:1, 355(1), 173–178.  
<https://doi.org/10.1007/S11010-011-0851-0>
- Dufour, Antoine, *et al.* "Role of matrix metalloproteinase-9 dimers in cell migration: design of inhibitory peptides." *Journal of Biological Chemistry* 285.46 (2010): 35944-35956.
- Eka Shinta, H., Gusti Alit Artha, I., & Saputra, H. (2019). Ekspresi Matriks Metalloproteinase-9 Berhubungan Positif dengan Kedalaman Invasi Adenokarsinoma Kolorektal. *Majalah Patologi Indonesia*, 28(2), 22–27.  
<https://majalahpatologiindonesia.com/p/index.php/patologi/article/view/384>
- Fakhri, A., & Agus, S. (2017). Hubungan Ekspresi Matriks Metaloproteinase-9 dan Tingkat Kedalaman Invasi Adenokarsinoma Kolorektal Invasif. *Majalah Patologi Indonesia*, 26(3), 21–26.  
<https://majalahpatologiindonesia.com/p/index.php/patologi/article/view/297>
- Farina, Antonietta Rosella, and Andrew Reay Mackay. "Gelatinase B/MMP-9 in tumour pathogenesis and progression." *Cancers* 6.1 (2014): 240-296.
- Fleming, Matthew, *et al.* "Colorectal carcinoma: Pathologic aspects." *Journal of gastrointestinal oncology* 3.3 (2012): 153.
- Gialeli, Chrisostomi, Achilleas D. Theocharis, and Nikos K. Karamanos. "Roles of matrix metalloproteinases in cancer progression and their pharmacological targeting." *The FEBS journal* 278.1 (2011): 16-27.

- Gill, Sean E., and William C. Parks. "Matrix metalloproteinases and their inhibitors in turnover and degradation of extracellular matrix." *Extracellular matrix degradation*. Springer, Berlin, Heidelberg, 2011. 1-22.
- GLOBOCAN. 2020. *Cancer today*. International Agency for Research on Cancer. <http://gco.iarc.fr/>
- Gonzalez RS. WHO classification. PathologyOutlines.com website. <https://www.pathologyoutlines.com/topic/colontumorwhoclassification.html>. Accessed January 3rd, 2022
- Granados-Romero, Juan José, *et al.* "Colorectal cancer: a review." *Int J Res Med Sci* 5.11 (2017): 4667-4676.
- Gunasekaran, V., Ekawati, N. P., & Sumadi, I. W. J. (2019). Karakteristik klinikopatologi karsinoma kolorektal di RSUP Sanglah, Bali, Indonesia tahun 2013-2017. *Intisari Sains Medis*, 10(3), 552–556. <https://doi.org/10.15562/ism.v10i3.458>
- Hamilton SW., *et al.* "Colorectal cancer screening." *Journal of the National Comprehensive Cancer Network* 8.1 (2010): 8-61.
- Hamza, Amal H., Hadeer A. Aglan, and Hanaa H. Ahmed. "Recent Concepts in the Pathogenesis and Management of Colorectal Cancer." *Recent Advanced in Colon Cancer* (2017).
- Hassan, Muhammad Radzi Abu, *et al.* "Survival analysis and prognostic factors for colorectal cancer patients in Malaysia." *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention* 17.7 (2016): 3575-3581.

- Hemminki, K., Santi, I., Weires, M., Thomsen, H., Sundquist, J., & Bermejo, J. L. (2010). Tumor location and patient characteristics of colon and rectal adenocarcinomas in relation to survival and TNM classes. *BMC Cancer*, *10*. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-10-688>
- Huang, X., Lan, Y., Li, E., Li, J., Deng, Q., & Deng, X. (2021). Diagnostic values of MMP-7, MMP-9, MMP-11, TIMP-1, TIMP-2, CEA, and CA19-9 in patients with colorectal cancer. *The Journal of International Medical Research*, *49*(5). <https://doi.org/10.1177/03000605211012570>
- Hull, M. A., Rees, C. J., Sharp, L., & Koo, S. (2020). A risk-stratified approach to colorectal cancer prevention and diagnosis. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology* *2020 17:12*, *17*(12), 773–780. <https://doi.org/10.1038/s41575-020-00368-3>
- Hurst, N. G., Stocken, D. D., Wilson, S., Keh, C., Wakelam, M. J. O., & Ismail, T. (2007). Elevated serum matrix metalloproteinase 9 (MMP-9) concentration predicts the presence of colorectal neoplasia in symptomatic patients. *British Journal of Cancer*, *97*(7), 971. <https://doi.org/10.1038/SJ.BJC.6603958>
- IARC (2019). Colorectal cancer screening. IARC Handb Cancer Prev. 17:1–300. Available from: <http://publications.iarc.fr/573>.
- Ihemelandu, Chukwuemeka *et al.* *Clinicopathologic and prognostic significance of LGR5, a cancer stem cell marker in patients with colorectal cancer. Colorectal cancer*. 2019; 8(4) CRC11. 12 Nov. 2019, DOI:10.2217/crc-2019-0009.

- Jabłońska-Trypuć, A., Matejczyk, M., & Rosochacki, S. (2016). Matrix metalloproteinases (MMPs), the main extracellular matrix (ECM) enzymes in collagen degradation, as a target for anticancer drugs. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, *31*(sup1), 177–183. <https://doi.org/10.3109/14756366.2016.1161620>
- Kessenbrock, Kai, Vicki Plaks, and Zena Werb. "Matrix metalloproteinases: regulators of the tumor microenvironment." *Cell* 141.1 (2010): 52-67.
- King, D. E., Matheson, E., Chirina, S., Shankar, A., & Broman-Fulks, J. (2013). The status of baby boomers' health in the United States: the healthiest generation? *JAMA Internal Medicine*, *173*(5), 385–386. <https://doi.org/10.1001/JAMAINTERNMED.2013.2006>
- Komite Penanggulangan Kanker Nasional (KPKN), "Pedoman Nasional Pelayanan Kedokteran Kolorektal" Kementerian Kesehatan Republik Indonesia (2017)
- Koskensalo, S., Hagström, J., Linder, N., Lundin, M., Sorsa, T., Louhimo, J., & Haglund, C. (2012). Lack of MMP-9 expression is a marker for poor prognosis in Dukes' B colorectal cancer. *BMC Clinical Pathology*, *12*. <https://doi.org/10.1186/1472-6890-12-24>
- Kostova E, Slaninka-Miceska M, Labacevski N, Jakjovski K, Trojacanec J, Atanasovska E, *et al.* Serum matrix metalloproteinase-2, -7 and -9 (MMP-2, MMP-7, MMP-9) level as prognostic markers in patient with colorectal cancer. *Int J Health Sci.* 2012; 2: 169-75.

- Krizkova, Sona, *et al.* "Assays for determination of matrix metalloproteinases and their activity." *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 30.11 (2011): 1819-1832.
- Lee, Chao-Hsien, Shu-Chen Cheng, Hong-Yi Tung, *et al.* *The Risk Factors Affecting Survival in Colorectal Cancer in Taiwan. Iran J Public Health.* 2018; 47(4): pp.519-530.
- Lee, J., Lee, J., & Kim, J. H. (2019). Identification of Matrix Metalloproteinase 11 as a Prognostic Biomarker in Pancreatic Cancer. *Anticancer Research*, 39(11), 5963–5971. <https://doi.org/10.21873/ANTICANRES.13801>
- Liang, S., & Chang, L. (2018). Serum matrix metalloproteinase-9 level as a biomarker for colorectal cancer: a diagnostic meta-analysis. *Biomarkers in Medicine*, 12(4), 393–402. <https://doi.org/10.2217/BMM-2017-0206>
- Liu, Y., Liu, H., Luo, X., Deng, J., Pan, Y., & Liang, H. (2015). Overexpression of SMYD3 and matrix metalloproteinase-9 are associated with poor prognosis of patients with gastric cancer. *Tumour Biology : The Journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine*, 36(6), 4377–4386. <https://doi.org/10.1007/S13277-015-3077-Z>
- Liu, Z., Zhang, Y., Niu, Y., Li, K., Liu, X., Chen, H., & Gao, C. (2014). A systematic review and meta-analysis of diagnostic and prognostic serum biomarkers of colorectal cancer. *PloS One*, 9(8). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0103910>

- Maajani, Khadije, *et al.* "Survival rate of colorectal cancer in Iran: a systematic review and meta-analysis." *Asian Pacific journal of cancer prevention: APJCP* 20.1 (2019): 13.
- Martinez-Useros, J., & Garcia-Foncillas, J. (2016). Obesity and colorectal cancer: molecular features of adipose tissue. *Journal of Translational Medicine*, 14(1). <https://doi.org/10.1186/S12967-016-0772-5>
- Matthew Hoffman, MD, *Medically Reviewed by Jennifer Robinson, MD* on June 22, 2020.
- Missiaglia, E., Jacobs, B., D'Ario, G., Di Narzo, A. F., Sonesson, C., Budinska, E., Popovici, V., Vecchione, L., Gerster, S., Yan, P., Roth, A. D., Klingbiel, D., Bosman, F. T., Delorenzi, M., & Tejpar, S. (2014). Distal and proximal colon cancers differ in terms of molecular, pathological, and clinical features. *Annals of Oncology : Official Journal of the European Society for Medical Oncology*, 25(10), 1995–2001. <https://doi.org/10.1093/ANNONC/MDU275>
- Mondal, S., Adhikari, N., Banerjee, S., Amin, S. A., & Jha, T. (2020). Matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and its inhibitors in cancer: A minireview. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 194. <https://doi.org/10.1016/J.EJMECH.2020.112260>
- Morales-Vásquez, F., Castillo-Sánchez, R., Gómora, M. J., Almaraz, M. Á., Pedernera, E., Pérez-Montiel, D., Rendón, E., López-Basave, H. N., Román-Basaure, E., Cuevas-Covarrubias, S., Maldonado-Cubas, J., Villa, A., & Mendez, C. (2020). Expression of metalloproteinases MMP-2 and MMP-9 is associated to the presence of androgen receptor in epithelial ovarian tumors.

*Journal of Ovarian Research*, 13(1). <https://doi.org/10.1186/S13048-020-00676-X>

Mroczo, B., Groblewska, M., Okulczyk, B., Kędra, B., & Szmitkowski, M. (2010).

The diagnostic value of matrix metalloproteinase 9 (MMP-9) and tissue inhibitor of matrix metalloproteinases 1 (TIMP-1) determination in the sera of colorectal adenoma and cancer patients. *International Journal of Colorectal Disease*, 25(10), 1177–1184. <https://doi.org/10.1007/S00384-010-0991-9>

Nasir, A., Kaiser, H. E., Boulware, D., Hakam, A., Zhao, H., Yeatman, T., Barthel,

J., & Coppola, D. (2004). Cyclooxygenase-2 expression in right- and left-sided colon cancer: a rationale for optimization of cyclooxygenase-2 inhibitor therapy. *Clinical Colorectal Cancer*, 3(4), 243–247. <https://doi.org/10.3816/CCC.2004.N.005>

Naylor, R. M., Baker, D. J., & Van Deursen, J. M. (2013). Senescent cells: a novel

therapeutic target for aging and age-related diseases. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 93(1), 105–116. <https://doi.org/10.1038/CLPT.2012.193>

NCCN Clinical Practice Guidelines In Oncology (NCCN Guidelines) “Colon Cancer, Rectal Cancer *NCCN Evidence Blocks Version 1.2022*

Otero-Estévez, O., De Chiara, L., Rodríguez-Girondo, M., Rodríguez-Berrocal, F.

J., Cubiella, J., Castro, I., Hernández, V., & Martínez-Zorzano, V. S. (2015). Serum matrix metalloproteinase-9 in colorectal cancer family-risk population screening. *Scientific Reports*, 5. <https://doi.org/10.1038/SREP13030>

Petrelli, F., Tomasello, G., Borgonovo, K., Ghidini, M., Turati, L., Dallera, P.,

Passalacqua, R., Sgroi, G., & Barni, S. (2017). Prognostic Survival Associated With Left-Sided vs Right-Sided Colon Cancer: A Systematic Review and



- Meta-analysis. *JAMA Oncology*, 3(2), 211–219.  
<https://doi.org/10.1001/JAMAONCOL.2016.4227>
- Pöschl, G., & Seitz, H. K. (2004). Alcohol and cancer. *Alcohol and Alcoholism (Oxford, Oxfordshire)*, 39(3), 155–165.  
<https://doi.org/10.1093/ALCALC/AGH057>
- Prasad, S., Sung, B., & Aggarwal, B. B. (2012). Age-associated chronic diseases require age-old medicine: role of chronic inflammation. *Preventive Medicine*, 54 Suppl(Suppl). <https://doi.org/10.1016/J.YPMED.2011.11.011>
- Quan, Taihao, *et al.* "Elevated matrix metalloproteinases and collagen fragmentation in photodamaged human skin: impact of altered extracellular matrix microenvironment on dermal fibroblast function." *The Journal of investigative dermatology*133.5 (2013): 1362.
- Rana AS, *et al.* *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. "MMP-9-induced increase in intestinal epithelial tight permeability is mediated by p38 kinase signaling pathway activation of MLCK gene". 2019.
- Recio-Boiles, Alejandro, Abdul Waheed, and Burt Cagir. "Cancer, colon." *StatPearls [Internet]* (2019).
- Rosenbloom J, Macarak E, Piera-Velazquez S, Jimenez SA. *Human Fibrotic Diseases: Current Challenges in Fibrosis Research*. Methods Mol Biol. 2017.
- Shen, H., Yang, J., Huang, Q., Jiang, M. J., Tan, Y. N., Fu, J. F., Zhu, L. Z., Fang, X. F., & Yuan, Y. (2015). Different treatment strategies and molecular features between right-sided and left-sided colon cancers. *World Journal of*

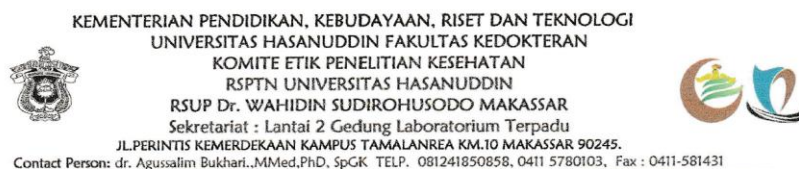
- Gastroenterology*, 21(21), 6470–6478. <https://doi.org/10.3748/WJG.V21.I21.6470>
- Shuryak, I., Sachs, R. K., & Brenner, D. J. (2010). Cancer risks after radiation exposure in middle age. *Journal of the National Cancer Institute*, 102(21), 1628–1636. <https://doi.org/10.1093/JNCI/DJQ346>
- Simon, K. (2016). Colorectal cancer development and advances in screening. *Clinical Interventions in Aging*, 11, 967–976. <https://doi.org/10.2147/CIA.S109285>
- Stintzing, S., Tejpar, S., Gibbs, P., Thiebach, L., & Lenz, H. J. (2017). Understanding the role of primary tumour localisation in colorectal cancer treatment and outcomes. *European Journal of Cancer (Oxford, England: 1990)*, 84, 69. <https://doi.org/10.1016/J.EJCA.2017.07.016>
- Sun, Jie, *et al.* "The role of m SEPT9 in screening, diagnosis, and recurrence monitoring of colorectal cancer." *BMC cancer*19.1 (2019): 1-10.
- Tahergorabi, Zoya, and Majid Khazaei. "A review on angiogenesis and its assays." *Iranian journal of basic medical sciences* 15.6 (2012): 1110.
- Verma, Rajeshwar P., and Corwin Hansch. "Matrix metalloproteinases (MMPs): chemical–biological functions and (Q) SARs." *Bioorganic & medicinal chemistry* 15.6 (2007): 2223-2268.
- White, M. C., Holman, D. M., Boehm, J. E., Peipins, L. A., Grossman, M., & Jane Henley, S. (2014). Age and Cancer Risk: A Potentially Modifiable Relationship. *American Journal of Preventive Medicine*, 46(3 0 1), S7. <https://doi.org/10.1016/J.AMEPRE.2013.10.029>
- Wilson, S., Damery, S., Stocken, D. D., Dowswell, G., Holder, R., Ward, S. T.,

- Redman, V., Wakelam, M. J., James, J., Hobbs, F. D. R., & Ismail, T. (2012). Serum matrix metalloproteinase 9 and colorectal neoplasia: a community-based evaluation of a potential diagnostic test. *British Journal of Cancer*, *106*(8), 1431. <https://doi.org/10.1038/BJC.2012.93>
- Winer, Arthur, Sylvia Adams, and Paolo Mignatti. "Matrix metalloproteinase inhibitors in cancer therapy: turning past failures into future successes." *Molecular cancer therapeutics* *17.6* (2018): 1147-1155.
- Wong, Martin CS, *et al.* "Prevalence and risk factors of colorectal cancer in Asia." *Intestinal research* *17.3* (2019): 317.
- Yadav, L., Puri, N., Rastogi, V., Satpute, P., Ahmad, R., & Kaur, G. (2014). Matrix metalloproteinases and cancer - Roles in threat and therapy. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, *15*(3), 1085–1091. <https://doi.org/10.7314/APJCP.2014.15.3.1085>
- Yamada, Yasuhiro, and Hideki Mori. "Multistep carcinogenesis of the colon in *ApcMin/+* mouse." *Cancer science* *98.1* (2007): 6-10.
- Yang GY, Guo S, Dong CY, Wang XQ, Hu BY, Liu YF. Integrin  $\alpha$ V $\beta$ 6 sustains and promotes tumor invasive growth in colon cancer progression. *World J Gastroenterol*. 2015; *21*: 7457-67.
- Yang, B., Tang, F., Zhang, B., Zhao, Y., Feng, J., & Rao, Z. (2014). Matrix metalloproteinase-9 overexpression is closely related to poor prognosis in patients with colon cancer. *World Journal of Surgical Oncology*, *12*(1), 24. <https://doi.org/10.1186/1477-7819-12-24>
- Zhang, Y., Guan, X. Y., Dong, B., Zhao, M., Wu, J. H., Tian, X. Y., & Hao, C. Y.

(2012). Expression of MMP-9 and WAVE3 in colorectal cancer and its relationship to clinicopathological features. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, 138(12), 2035–2044. <https://doi.org/10.1007/s00432-012-1274-3>

Zuzga, David S., *et al.* "Overexpression of matrix metalloproteinase 9 in tumor epithelial cells correlates with colorectal cancer metastasis." *Clinical and translational science* 1.2 (2008): 136-141.

## LAMPIRAN



### REKOMENDASI PERSETUJUAN ETIK

Nomor : 90/UN4.6.4.5.31/ PP36/ 2022

Tanggal: 25 Februari 2022

Dengan ini Menyatakan bahwa Protokol dan Dokumen yang Berhubungan Dengan Protokol berikut ini telah mendapatkan Persetujuan Etik :

No Protokol	UH22020057	No Sponsor Protokol	
Peneliti Utama	<b>dr. Mudatsir,SpB</b>	Sponsor	
Judul Peneliti	HUBUNGAN EKSPRESI MATRIKS METALLOPROTEINASE-9 (MMP-9) DENGAN KLINIKOPATOLOGI PADA PASIEN KANKER KOLOREKTAL		
No Versi Protokol	<b>1</b>	Tanggal Versi	<b>8 Pebruari 2022</b>
No Versi PSP	<b>1</b>	Tanggal Versi	<b>8 Pebruari 2022</b>
Tempat Penelitian	RS Universitas Hasanuddin dan RS Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar		
Jenis Review	<input type="checkbox"/> Exempted <input checked="" type="checkbox"/> Expedited <input type="checkbox"/> Fullboard Tanggal	Masa Berlaku <b>25 Pebruari 2022</b> sampai <b>25 Pebruari 2023</b>	Frekuensi review lanjutan
Ketua KEPK FKUH RSUH dan RSWS	Nama <b>Prof.Dr.dr. Suryani As'ad, M.Sc.,Sp.GK (K)</b>	Tanda tangan	
Sekretaris KEPK FKUH RSUH dan RSWS	Nama <b>dr. Agussalim Bukhari, M.Med.,Ph.D.,Sp.GK (K)</b>	Tanda tangan	

**Kewajiban Peneliti Utama:**

- Menyerahkan Amandemen Protokol untuk persetujuan sebelum di implementasikan
- Menyerahkan Laporan SAE ke Komisi Etik dalam 24 Jam dan dilengkapi dalam 7 hari dan Lapor SUSAR dalam 72 Jam setelah Peneliti Utama menerima laporan
- Menyerahkan Laporan Kemajuan (progress report) setiap 6 bulan untuk penelitian resiko tinggi dan setiap setahun untuk penelitian resiko rendah
- Menyerahkan laporan akhir setelah Penelitian berakhir
- Melaporkan penyimpangan dari prokol yang disetujui (protocol deviation / violation)
- Mematuhi semua peraturan yang ditentukan

## PROSEDUR PEMERIKSAAN IMUNOHISTOKIMIA (IHK) DAN MMP-9

- Potong blok paraffin dengan mikrotom pada ketebalan 3-4  $\mu\text{m}$ , lalu celupkan ke dalam *Waterbath*



- Ambil potongan jaringan dengan *slide* lalu tiriskan, dan tulis pada *slide* kode sesuai blok paraffin dengan pensil



- Panaskan *slide* diatas Hot Plate selama 1 jam
- Dinginkan *slide* lalu masukkan kedalam keranjang *slide*
- Deparafinasi ( Xylol I, Xylol II, Xylol III) masing-masing 5 menit



- Rehidrasi (Alkohol 96%, Alkohol 80%, Alkohol 70%), masing-masing selama 5 menit, kemudian cuci dengan air mengalir selama 5 menit



- Angkat dari air lalu masukkan *slide* kedalam larutan *Blocking Endogen Peroksida*, rendam selama 15 menit, lalu cuci dengan air mengalir selama 5 menit



- Masukkan keranjang berisi *slide* ke dalam *decloaking* yang berisi larutan *Antigen Retrieval Decloaking Chamber*, lalu letakkan *slide* pada *rack holder* dan masukkan *rack holder* ke dalam *decloaking*, lalu tutup



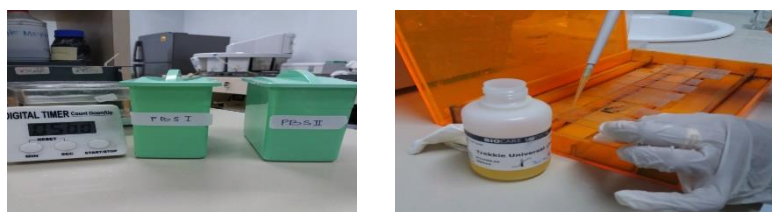
- Atur waktu yaitu selama 40 menit pada suhu 95 derajat.



- Dinginkan, dengan mengeluarkan *slide* dari *decloaking* dan disimpan pada suhu ruangan
- Setelah dingin , cuci dalam larutan PBS 2x masing-masing selama 5 menit
- Tandai *slide* dengan memberi lingkaran sekitar jaringan
- Atur *slide* pada baki slide
- Ambil satu per satu lalu tetesi *Background Sniper* lalu inkubasi selama 30 menit



- Buang larutan *background sniper* dengan cara ditiriskan pada tisu
- Tetesi Antibodi **MMP-9** lalu inkubasi selama 1 jam pada suhu ruangan
- Cuci PBS 2x selama 5 menit
- Tetesi *Trekkie Universal* lalu diamkan selama 30 menit



- Tiriskan pada tissue lalu tetesi *Trekkavidin-HRP* lalu diamkan selama 30 menit, lalu cuci PBS 2x dengan cara merendam slide selama 5 menit





- Sambil menunggu pencucian, buat larutan DAB dengan cara campurkan cromogen DAB 1 tetes + *Substrat buffer* 1 ml (dicampur dalam tabung bersih) lalu tetesi ke jaringan
- Amati jaringan jika sudah menunjukkan warna coklat, langsung direndam ke dalam air selama 5 menit



- Rendam dengan *hematoxylin Meyer* 5 menit, lalu uci air mengalir selama 5 menit



- Dehidrasi ( Alkohol 70%, Alkohol 80%, Alkohol 96%) masing-masing 5 menit, lalu *Clearing* ( Xylol I, Xylol II, Xylol III)



- Keringkan slide lalu tetesi dengan entelan lalu tutup dengan *deck glass*.
- Amati di Mikroskop

**FOTO KEGIATAN DI LABORATORIUM PATOLOGI ANATOMI**

