



TAMPILAN IMMUNOHISTOKIMIA *Ki67* PADA KULIT TIKUS MODEL LUKA BAKAR

Chairani^{1*} · Tofrizal² · Agus Sutiaman³ · Fitra Wahyuni⁴

^{1,3}Teknologi Laboratorium Medik, Fakultas Kesehatan, Universitas Perintis Padang, Sumatera Barat, Indonesia

²Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Andalas, Sumatera Barat, Indonesia

⁴Keperawatan, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Pekanbaru Medical Center, Riau, Indonesia

e-Mail : rani_arizal@yahoo.com

Abstract

Burns is one of the global health problems that can cause death with a prevalence of 180,000 each year. Most burns occur in low-middle income countries and nearly two-thirds occur in Africa and Southeast Asia. Non-fatal burns can result in prolonged morbidity, hospitalization in health services for a long time, and disability that can lead to rejection in the community. One of the assessments to determine the healing rate of burns is by observing cell proliferation which indicates the occurrence of new cell regeneration. One of the markers of cell proliferation is the protein Ki-67. This study aimed to observe the appearance of Ki-67 immunohistochemistry and mitotic activity in the skin of rat model burn injury. This study is a descriptive study with a cross-sectional approach to a 10 paraffin block of rat skin burn model. Wound healing was observed by the immunohistochemical display of Ki-67 and mitotic activity in the sample preparations. The preparations were observed under an Olympus light microscope with a magnification of 40x. The results showed the immunohistochemical appearance of Ki67 and the rate of mitotic activity was 32.4. Based on this study, it was concluded that to see the rate of wound healing in burn animal skin models, it was better to use the Ki-67 immunohistochemical display.

Keywords: Burn injury, Ki-67 immunohistochemical, mitosis

Abstrak

Luka bakar merupakan salah satu masalah kesehatan global yang dapat mengakibatkan kematian diperkirakan sekitar 180.000 setiap tahunnya. Sebagian besar luka bakar terjadi pada negara berpenghasilan menengah ke bawah dan hampir dua per tiganya terjadi di Afrika dan Asia Tenggara. Luka bakar yang tidak fatal dapat mengakibatkan morbidity yang berkepanjangan, rawat inap di pelayanan kesehatan dalam waktu yang lama dan cacat yang dapat mengakibatkan penolakan di masyarakat. Penilaian untuk menentukan tingkat kesembuhan luka bakar salah satunya adalah dengan mengamati proliferasi sel yang menandakan terjadinya regenerasi sel baru. Salah satu penanda terjadinya proliferasi sel adalah protein Ki67. Penelitian ini bertujuan untuk mengamati tampilan immunohistokimia Ki67 dan aktifitas mitosis pada kulit tikus model luka bakar. Penelitian ini adalah penelitian deskriptif dengan pendekatan potong lintang terhadap 10 sampel blok paraffin kulit tikus model luka bakar. Kesembuhan luka diamati dengan tampilan immunohistokimia Ki67 dan aktifitas

mitosis pada sampel preparat. Preparat diamati dibawah mikroskop cahaya merek *Olympus* dengan perbesaran 40x. Hasil penelitian menunjukkan tampilan immunohistokimia Ki67 dan rerata aktifitas mitosis sebesar 32,42. Berdasarkan penelitian ini disimpulkan bahwa untuk melihat tingkat kesembuhan luka pada kulit hewan model luka bakar lebih baik menggunakan tampilah immunohistokimia Ki67.

Kata Kunci : Luka bakar, immunohistokimia Ki67, mitosis

PENDAHULUAN

Luka bakar merupakan luka yang terjadi pada kulit atau pada jaringan lainnya dikarenakan panas atau karena radisi, radioaktif, listrik, gesekan atau kontak dengan bahan kimia. Luka bakar menjadi salah satu masalah kesehatan global, dengan perkiraan 180.000 kematian setiap tahunnya, sebagian besar terjadi pada negara-negara dengan berpenghasilan rendah sampai menengah dan hampir dua per tiga terjadi di Afrika dan wilayah Asia Tenggara (WHO, 2018). Pada Asia Tenggara angka kematian akibat luka bakar cukup tinggi dengan perkiraan 11,6 kematian per 100.000 populasi per tahunnya (Ramli, Prawoto, Riasa, Saputro, & Mas'ud, 2021), sedangkan di Indonesia prevalensi luka bakar diperkirakan 1,3% dari total populasi. Sumatera Barat merupakan salah satu provinsi di Indonesia yang mempunyai angka kejadian luka bakar nomor empat tertinggi dengan rata-rata 1,8% dari total populasi dan berdasarkan data luka bakar pada Rumah Sakit Umum Daerah M.Djamil yang terdapat di ibukota provinsi Sumatera Barat, kejadian luka bakar meningkat setiap tahunnya (Ministry of Health of the Republic of Indonesia, 2018).

Luka bakar yang tidak fatal dapat mengakibatkan morbidity yang berkepanjangan, rawat inap di pelayanan kesehatan dalam waktu yang lama dan cacat yang dapat mengakibatkan penolakan di masyarakat (WHO, 2018). Dikarenakan dampak yang merugikan bagi penderita luka bakar maka saat ini banyak muncul berbagai penelitian menggunakan hewan coba untuk menentukan terapi baru pada luka bakar. Untuk menentukan kesembuhan luka bakar, salah satu faktor yang diukur adalah aktivitas proliferasi sel sebagai tanda regenerasi sel. Menghitung proliferasi sel dapat menggunakan

pewarnaan. Pada dasarnya pewarnaan ada 2 macam, yaitu pewarnaan rutin menggunakan Hematoksilin Eosin (HE) dan pewarnaan khusus seperti Proliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA), Ki-67, cyclin-D dan Minichromosome Maintenance Protein (MCM) (Soares, 2016; Maheswari, 2017). Kelebihan dari pewarnaan rutin Hematoksilin Eosin adalah mudah digunakan, mudah didapat, harga lebih murah, dalam sekali pengenceran reagen dapat digunakan untuk mewarnai beberapa kali, dapat menggambarkan struktur sel dan jaringan secara jelas, sedangkan kekurangannya adalah mudah timbulnya artefak, waktu dan prosedur perendaman harus tepat, dan kualitas pewarnaan harus selalu dipantau (Rolls, 2019). Kelebihan dari pewarnaan immunohistokimia Ki-67 adalah spesifik terhadap antigen epitope, dapat menggambarkan tingkat pertumbuhan sel yaitu dalam mendiagnosis suatu proses keganasan, kelainan genetik, memiliki sensitivitas yang sama baiknya dengan metode imunofluoresen dalam mendeteksi kelainan genetik pada potongan beku dan mampu melokalisir protein dalam sel dari suatu jaringan melalui prinsip pengikatan antibodi spesifik terhadap antigen (Sudiono, 2018). Sedangkan kekurangannya adalah lebih berperan dalam perkembangan sel yang tidak normal pada fase awal dibanding dengan pertumbuhan sel pada fase lanjut atau ukuran yang sudah besar, merupakan salah satu teknik dalam membantu memastikan suatu penyakit namun tidak dapat digunakan secara tersendiri, tidak bias mengenali lebih dari satu antigen epitope, dan dapat terjadi reaksi silang pada antigen epitope yang sama di beberapa protein (Mahayasa dkk, 2016).

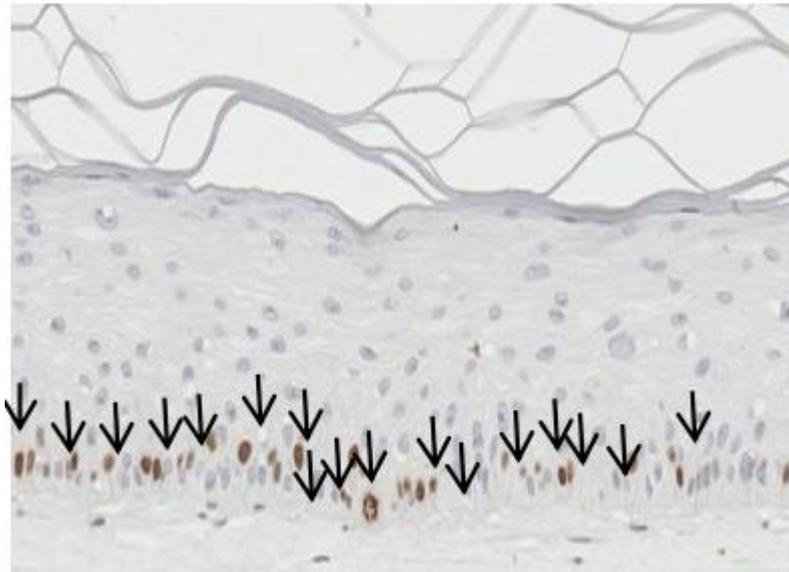
BAHAN DAN METODE

Jenis dan Desain penelitian ini menggunakan metode analisis deskriptif untuk mengidentifikasi sel mitosis pada kulit hewan coba menggunakan immunohistokimia Ki-67. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang. Populasi penelitian

ini adalah sediaan blok paraffin yang terdapat di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang. Sample penelitian ini adalah bagian dari populasi yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Bahan berisikan detail bahan, spesimen, reagen, sampel, atau populasi yang digunakan pada penelitian.

HASIL

Hasil penelitian ini dapat dilihat pada gambar dan tabel berikut,



Gambar 1. Tampilan Immunohitokimia Ki67

Berdasarkan gambar 1 diamati bahwa tampilan immunohistokimia Ki67 terlihat terwarnai positif coklat pada inti dan lebih mudah dikenali. Jumlah sel mitosis yang diidentifikasi dalam masa mitosis pada tampilan immunohistokimia cukup tinggi, yang menunjukkan penyembuhan luka, adanya regenerasi sel, pengamatan ini terlihat dengan menggunakan perbesaran 40x.

Tabel 1. Aktifitas Mitosis Pada Immunohistokimia Ki67

Kelompok	Lapang Pandang					Rerata Sampel	Rerata kelompok
	1	2	3	4	5		
Sampel 1	30	23	23	23	31	26	32,42
Sampel 2	32	23	34	32	35	31,2	
Sampel 3	34	32	23	24	43	31,2	
Sampel 4	32	43	45	23	43	37,2	
Sampel 5	14	34	43	23	23	27,4	
Sampel 6	23	43	34	23	32	31	
Sampel 7	34	43	23	34	30	32,8	
Sampel 8	23	34	43	35	43	35,6	
Sampel 9	32	34	54	43	34	39,4	
Sampel 10	34	32	32	32	32	32,4	

Tabel 1 menunjukkan bahwa aktifitas mitosis untuk menandakan penyembuhan luka dengan menggunakan tampilan immunohistokimia Ki67 pada jaringan kulit tikus model luka bakar didapatkan cukup tinggi yaitu 32,42.

DISKUSI

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan pada Blok Parafin untuk melihat tampilan Immunohistokimia Ki-67 dan rerata aktifitas mitosis yang menandakan penyembuhan luka. Pada pewarnaan Immunohistokimia Ki-67 rerata aktifitas mitosis sebanyak 32,42. Hal ini terjadi karena pada pewarnaan IHK merupakan pewarnaan IHK Ki-67 spesifik kepada sel dan antigen (Sudiono, 2018), dan hasil pewarnaan IHK Ki-67 lebih jelas dapat dilihat pada gambar hasil penelitian ini.

Kelebihan dari pewarnaan Immunohistokimia Ki-67 adalah dapat menggambarkan tingkat pertumbuhan sel yaitu dalam mendiagnosis suatu proses keganasan, kelainan genetik, memiliki sensitivitas yang sama baiknya dengan metode imunofluoresen dalam mendeteksi kelainan genetik pada potongan beku dan mampu melokalisir protein dalam sel dari suatu jaringan melalui prinsip pengikatan antibodi spesifik terhadap antigen (Sudiono, 2018). Sedangkan kekurangannya adalah lebih berperan dalam perkembangan sel yang tidak normal pada fase awal dibanding dengan pertumbuhan sel pada

fase lanjut atau ukuran yang sudah besar, merupakan salah satu teknik dalam membantu memastikan suatu penyakit namun tidak dapat digunakan secara tersendiri (Mahayasa dkk, 2016).

Antigen yang diambil dengan menggunakan antibodi monoklonal tikus yang secara langsung berlawanan dengan antigen inti sel dari limfoma non-Hogkin pada manusia. Dengan tidak ditemukannya Ki-67 pada sel yang tidak membelah telah menunjukkan bahwa protein ini telah berperan penting sebagai suatu penanda pembelahan sel. Gen Ki-67 terdapat pada lengan panjang kromosom 10 manusia (10q25). Terdapat dua mRNA alternative yang dihasilkan dari penyambungan dua protein isoform pengkode tersebut. Protein isoform Ki-67 yang berukuran besar memiliki massa molekul sebesar 359KD dan yang berukuran kecil memiliki massa sebesar 320KD (Uxa et al., 2021). Protein ini ditemukan terutama pada korteks nukleolus dan pada komponen fibrin yang padat dinukleolus selama fase interfase. Selama proses mitosis kromosom-kromosom tersebut mengumpul kearah tepi. Sel yang mengekspresikan Ki-67 terlihat berwarna coklat pada inti sel. Warna coklat pada inti sel ini dapat dilihat pada gambar pada hasil penelitian

Sel menunjukkan tampilan Ki-67 ini selama fase siklus sel G1, S, G2 dan M dan tidak tertampil selama fase istirahat (G0). Tampilan Ki-67 terlokalisir di nukleolus di G1 dengan distribusi nukleoplasmik kemudian pada siklus sel. Intensitas endapan coklat (pewarnaan Ki-67) meningkat selama fase S dan G2 dan mulai bertambah mencapai titik-titik maximum pada fase mitosis. Pada fase S antigen terlihat secara homogen pada karioplasma dan pada fase G2 endapan coklat dalam karioplasma terlihat sebagai pola campuran, granular halus dan berbintik dengan endapan coklat masih terlihat pada perinukleolar (Uxa et al., 2021).

Pada fase G1 terjadi beberapa kegiatan yang mendukung yaitu transkripsi RNA, sintesis protein yang bermanfaat untuk memacu pembelahan nucleus, enzim yang diperlukan untuk replikasi DNA, tubulin dan protein yang akan membentuk benang spindle. Pada fase S terjadi replikasi DNA dan Kromosom

sedangkan pada fase G2 sintesis protein-protein yang dibutuhkan pada fase mitosis, seperti sub unit benang gelendong, pertumbuhan organel-organel dan makromolekul lainnya (mitokondria, ribosom, plastid, dan lain-lain)(Mrouj et al., 2021).

KESIMPULAN

Kesimpulan penelitian ini adalah untuk melihat tingkat kesembuhan luka pada kulit hewan model luka bakar lebih baik menggunakan tampilah immunohistokimia Ki67

UCAPAN TERIMAKASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu terlaksananya penelitian ini.

KONFLIK KEPENTINGAN

Pada penelitian ini tidak terdapat konflik kepentingan.

REFRENSI

- Mahayasa, I Made, dkk. 2016. Hubungan antara Ekspresi Ki-67 dan Kaspase-3 dengan Respons Kemoterapi Neoajuvan pada Pasien Karsinoma Serviks Stadium IB2 dan IIA2 di Rumah Sakit Dr. Hasan Sadikin Bandung. Artikel Penelitian: Bandung.
- Maheshwari, V. Sharma, SC. Narula, V. Verma, S. Jain, A. Alam, K. 2017. Prognostic and predictive impact of Ki-67 in premalignant and malignant squamous cell lesions of oral cavity. *Int J of Head and Neck*;4(2):61-5.
- Ministry of Health of the Republic of Indonesia. (2018). *Laporan Nasional RIKESDAS 2018*. Retrieved from http://labdata.litbang.kemkes.go.id/images/download/laporan/RKD/2018/Laporan_Nasional_RKD2018_FINAL.pdf
- Mrouj, K., Andrés-Sánchez, N., Dubra, G., Singh, P., Sobecki, M., Chahar, D., ... Fisher, D. (2021). Ki-67 regulates global gene expression and promotes sequential stages of carcinogenesis. *Proceedings of the National Academy*
-

- of Sciences of the United States of America*, 118(10), 1-12.
<https://doi.org/10.1073/pnas.2026507118>
- Ramli, R. N., Prawoto, A. N., Riasa, N. P., Saputro, I. D., & Mas'ud, A. F. (2021). Epidemiology and knowledge of first aid treatment related to burn injury in the rural region of kulon progo, Indonesia. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, 9(E), 101-108.
<https://doi.org/10.3889/oamjms.2021.5649>
- Rolls, Geoffrey O. 2019. H&E Staining Overview: A Guide to Best Practices. Department of Laboratory Medicine. RMIT University in Melbourne:Australia.
- Soares, CP. et al. 2016. Quantitative cell- cycle protein expression in oral cancer assessed by computer- assisted system. *Histol Histopathol*;21:721-8.
- Sudiono, Janti. 2018. Pemeriksaan Patologi untuk Diagnosis Neoplasma Mulut. Penerbit Buku Kedokteran ECG: Jakarta.
- Uxa, S., Castillo-Binder, P., Kohler, R., Stangner, K., Müller, G. A., & Engeland, K. (2021). Ki-67 gene expression. *Cell Death and Differentiation*, 28(12), 3357-3370. <https://doi.org/10.1038/s41418-021-00823-x>
- WHO. (2018). *2018-Burn WHO*. Retrieved from <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/burns>
-