



Hubungan antara Ekspresi Protein MMR (*Mismatch Repair*) MLH-1 dengan Status Metastasis Kelenjar Getah Bening pada Pasien Karsinoma Kolorektal di RS. Kariadi

Correlation Between MLH-1 Mismatch Repair Protein Expression and Lymph Node Metastasis Status in Colorectal Carcinoma at Kariadi Hospital

Ernestine Sutrisno^{1*}, Hermawan Istiadi², Devia Eka Listiana², Siti Amarwati², Awal Prasetyo²

¹Residen Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Indonesia

²Staf Pengajar Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Indonesia

*Penulis Korespondensi: Ernestine Sutrisno. Email : drernestinesutrisno@gmail.com

Article Info

Article History:

Received : 6 Mei 2025

Accepted : 29 Juni 2025

Abstrak

Latar Belakang: Karsinoma kolorektal adalah tumor epitelial ganas dari usus besar dan rektum dengan insidensi dan tingkat mortalitas yang menduduki peringkat kedua di dunia berdasarkan data *Global Cancer Observatory* (GLOBOCAN) tahun 2020. Peran genetika molekuler dalam patogenesis sangatlah signifikan, terutama terkait dengan microsatellite instability, yang muncul akibat kekurangan protein *Mismatch Repair* (MMR), khususnya MutL homolog 1 (MLH-1). Metastasis kelenjar getah bening (KGB) merupakan indikator penting pada kualitas dan pemberian terapi untuk pasien-pasien dengan stadium awal. Saat ini belum banyak penelitian mengenai ekspresi MLH-1 yang berhubungan dengan metastasis KGB pada pasien kolorektal di RS Dr. Kariadi Semarang. Penelitian ini bertujuan membuktikan hubungan antara ekspresi protein MMR MLH-1 dengan status metastasis KGB pasien karsinoma kolorektal di RS Dr. Kariadi Semarang.

Metode: Penelitian ini merupakan sebuah studi observasional analitik yang mengadopsi desain penelitian *cross sectional*. Metode pengambilan sampel yang diterapkan adalah *consecutive sampling*. Sampel yang digunakan berupa blok paraffin dan slide kaca dari pasien karsinoma kolorektal yang dirawat di RS Dr. Kariadi dari 1 Januari 2020-31 Desember 2022 sejumlah 51 sampel. Data yang dikumpulkan adalah data hasil ekspresi MLH-1 yang didapatkan dari pulasan imunohistokimia dan data status metastasis KGB dari arsip jawaban patologi anatomi di Laboratorium Patologi Anatomi RS Dr. Kariadi Semarang.

Hasil: Hasil uji hubungan ekspresi MLH-1 terhadap status metastasis KGB dengan menggunakan uji *Chi-Square* dan dilanjutkan uji alternatif dengan menggunakan uji Mann-Whitney didapatkan nilai $p=0,016$ ($p<0,05$). Hal ini mengindikasikan bahwa terdapat hubungan yang signifikan antara ekspresi MLH-1 dan status metastasis KGB.

Kesimpulan: Ada hubungan yang signifikan secara statistik antara manifestasi MLH-1 dan status metastasis pasien dengan pasien kanker KGB di RS Dr. Kariadi.

Abstract

Background: Colorectal carcinoma is a malignant epithelial tumor originating from the colon and rectum with high incidence and mortality, is the second leading cause of cancer-related deaths worldwide based on *Global Cancer Observatory* (GLOBOCAN) 2020. The role of molecular genetics in pathogenesis is significant, especially regarding microsatellite instability (MSI), which arises from a deficiency in *Mismatch Repair* (MMR) proteins, particularly MLH-1.

Kata Kunci:

Ekspresi MLH-1,
karsinoma kolorektal,
status metastasis KGB

Keywords:

MLH-1 expression,
colorectal Carcinoma,
lymph node metastasis status

Lymph node metastasis is a critical indicator for early-stage patient treatment and prognosis. Limited research exists on MLH-1 expression's relationship with lymph node metastasis in colorectal carcinoma patients at Dr. Dr. Kariadi Hospital. This study aims to examine the relationship between MLH-1 Mismatch Repair protein expression and lymph node metastasis status in patients with colorectal carcinoma at Dr. Dr. Kariadi Hospital.

Method: This study is an observational analytical investigation employing a cross-sectional research strategy. Consecutive sampling was utilized. Samples comprised paraffin blocks and glass slides from colorectal cancer patients treated at Dr. Kariadi Hospital between January 1, 2020, and December 31, 2022 with 51 samples. Collected data included MLH-1 expression results with immuno-histochemistry and lymph node metastasis status from anatomical pathology report archives at Dr. Kariadi Hospital's Anatomical Pathology Laboratory.

Results: The Chi-Square test ($p=0.016$, $p<0.05$) and the subsequent Mann-Whitney alternative test revealed a statistically significant correlation between MLH-1 expression and lymph node metastatic status.

Conclusion: A statistically significant relationship exists between MLH-1 expression and lymph node metastasis status in colorectal carcinoma patients at Dr. Kariadi Hospital.

PENDAHULUAN

Karsinoma kolorektal atau *colorectal carcinoma* (CRC) merupakan jenis tumor ganas yang berasal dari jaringan epitel di usus besar dan rektum, yang ditandai dengan diferensiasi kelenjar atau musinus.¹ Berdasarkan data dari GLOBOCAN (*Global Cancer Observatory*) yang merupakan basis data statistik kanker global pada tahun 2020, ditemukan sebanyak 1.148.515 kasus CRC secara global, menjadikannya sebagai penyebab kematian kedua terbesar di dunia.² Menurut database dari GLOBOCAN yang dikeluarkan oleh *International Agency for Research on Cancer* (IARC) pada tahun 2020, insidensi CRC di Indonesia diperkirakan sebanyak 35.676 dari 408.661 kasus baru dan menduduki peringkat keempat.³ Angka ini meningkat dari data sebelumnya di tahun 2018 yaitu sebesar 30.017 dari 348.809 kasus kanker.⁴

Faktor risiko dari karsinoma kolorektal diantaranya adalah faktor genetik. Faktor risiko lain diantaranya adalah riwayat *inflammatory bowel disease* (IBD), riwayat radioterapi di daerah sekitar abdomen dan pelvis, ras, jenis kelamin, adanya obesitas, diabetes melitus, diet yang buruk (seperti makan makanan daging merah cepat saji, rendah serat, rendah kalsium dan rendah *whole grain*), serta merokok.^{3,5-7}

Faktor prognostik yang berperan dalam patogenesis karsinoma kolorektal yaitu peran molekul genetik.¹ Perubahan genetik molekul pada sel-sel ganas karsinoma kolorektal dapat melalui salah satu dari tiga mekanisme instabilitas genetik, yaitu; 1.) *Chromosomal Instability* (CIN), 2.) *Microsatellite Instability* (MSI) dan 3.) kecacatan pada enzim atau protein *proofreading polymerase* yang dapat mengakibatkan kecepatan mutasi yang tinggi (*ultra-mutant*).^{1,8}

Aspek MSI terjadi akibat adanya defisiensi protein gen *Mismatch Repair* (dMMR) yaitu MLH-1, MSH-2, MSH-6, dan PMS-2.⁸ Gen *Mismatch Repair* merupakan marker molekul spesifik pada karsinoma kolorektal. Mutasi pada gen MMR menyebabkan inaktivasi protein gen MMR dan menghasilkan replikasi DNA yang salah serta tidak dapat diperbaiki sehingga terjadi perubahan genomik pada sel normal yang bertransformasi menjadi sel tumor. Inaktivasi protein gen MMR tersering adalah MLH-1 sehingga sering dipakai sebagai marker terhadap perubahan sifat biologi dari MSI berhubungan dengan banyaknya jumlah kelenjar getah bening yang mengalami metastasis.^{8,9}

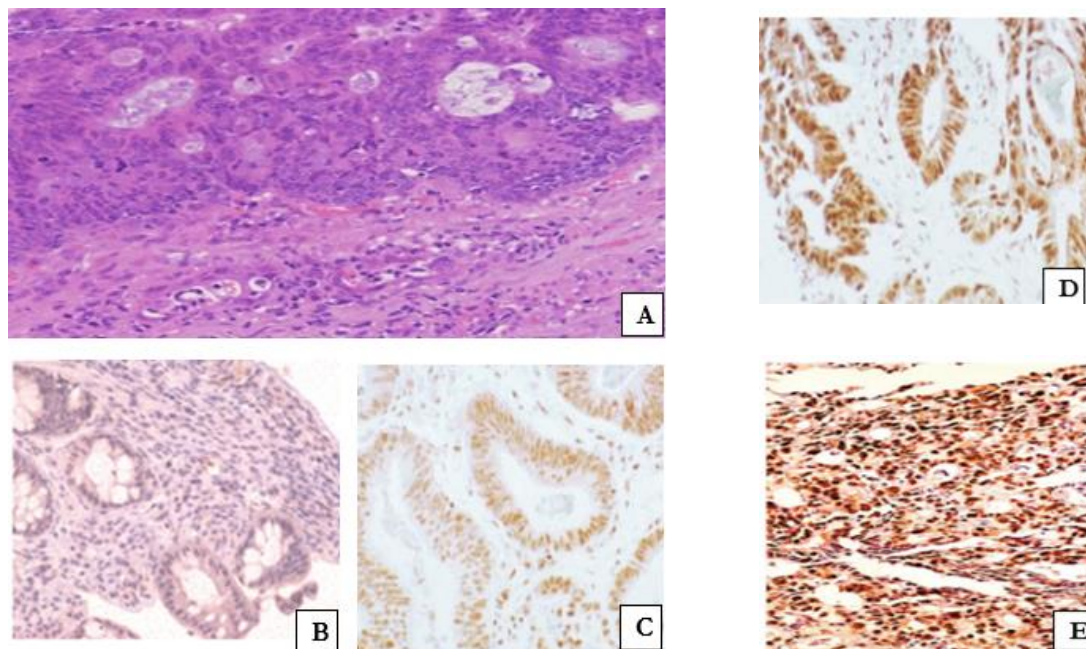
Metastasis kelenjar getah bening dan invasi sel dipengaruhi oleh fungsi *E-cadherin* dan Beta-katenin.¹⁰ Metastasis kelenjar KGB pada karsinoma kolorektal merupakan indikator penting pada kualitas dan pemberian

terapi untuk pasien-pasien dengan stadium awal.⁹ Berdasarkan informasi dari *American Joint Committee on Cancer* (AJCC), dan *International Union Against Cancer* (UICC), sistem sistem *staging tumor-node-metastasis* (TNM) merupakan metode primer untuk menentukan prognosis pasien.¹¹

MutL homolog 1 penting sebagai prediktor metastasis KGB pada pasien karsinoma kolorektal, sehingga penelitian ini memiliki tujuan untuk mengungkapkan keterkaitan antara ekspresi protein MMR MLH-1 dengan status metastasis KGB pada pasien karsinoma kolorektal di RS Dr. Kariadi.

METODE

Penelitian ini merupakan sebuah studi observasional analitik yang mengadopsi desain penelitian *cross sectional*. Dalam penelitian ini, tersedia 51 sampel blok parafin dari pasien yang telah terdiagnosis dengan karsinoma kolorektal, baik yang disertai dengan metastasis KGB maupun yang tidak mengalami metastasis KGB, terdiri dari 30 sampel yang negatif metastasis KGB dan 21 sampel yang positif metastasis KGB. Data yang di peroleh dianalisis lebih lanjut dengan menggunakan *software* analisis. Penelitian ini dilaksanakan setelah memperoleh persetujuan etika dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) RS. Dr. Kariadi Semarang (Nomor izin: 439/EC/KEPK/FK-UNDIP/VIII/2024)



Gambar 1. Hematoxylin & Eosin (HE) karsinoma kolorektal (A), sel tumor tidak terpulas di inti, skoring 0 (B), sel tumor terpulas di inti warna cokelat samar, skoring 1 (C), sel tumor terpulas di inti warna cokelat, skoring 2 (D), sel tumor terpulas di inti warna cokelat gelap, skoring 3 (E). Perbesaran 400x¹²

Metode Pemeriksaan Imunohistokimia

Blok parafin yang berasal dari masing-masing pasien dikumpulkan, kemudian di-

potong menggunakan mikrotom hingga menghasilkan irisan jaringan dengan ketebalan 3-5 μm . Berikutnya, pita parafin mengalami

proses deparafinasi dengan menggunakan xylol dan kemudian dilakukan rehidrasi.

Tahap selanjutnya slide di masukkan dalam Antigen retrieval dipanaskan dalam microwave dengan suhu 96°C, pH 6 selama 40 menit. Slide tersebut selanjutnya dicuci menggunakan larutan *phosphate buffer saline* (PBS). Eliminasi endogen peroksi-dase menggunakan H₂O₂ peroksidase selama 30 menit. Selanjutnya, proses pembilasan dilakukan dengan air mengalir selama 10 menit, diikuti dengan pencucian menggunakan PBS. Pengeblokan serum menggunakan Normal Swine Serum (NSS) 3 % selama 20 menit. Setelah itu slide ditetesi antibodi primer MLH-1 dengan pengenceran 1 : 100 dengan NSS semalam (overnight) pada suhu kamar. Semua slide yang telah diwarnai akan dievaluasi menggunakan mikroskop dengan pembesaran 40x dan 400x.

Skoring untuk evaluasi MLH-1

Ekspresi MLH-1 positif bila inti sel tumor terpulsa warna cokelat dengan pembesaran 400x. Intensitas pewarnaan dinilai sebagai skoring 0 (tidak ada intensitas, tidak ada ekspresi di inti sel), 1 (intensitas ringan, ekspresi di inti sel warna cokelat samar), 2

(intensitas sedang, intensitas di inti sel warna cokelat), 3 (intensitas kuat, ekspresi sangat kuat di inti sel warna cokelat gelap).

Analisis Statistik

Data yang telah dikumpulkan akan dianalisis lebih lanjut dengan menggunakan software analisis. Sebelum melakukan uji hipotesis, data yang diperoleh dengan skala ordinal dan kategorik yaitu ekspresi MLH-1 dan karsinoma kolorektal dari operasi reseksi dengan metastasis KGB maupun tanpa metastasis KGB akan ditampilkan dalam bentuk frekuensi dan proporsi. Kaitan antara variabel penelitian diperoleh melalui analisis *Chi-square* dan analisis korelasi *Spearman*, dengan menetapkan tingkat signifikansi $p < 0,05$.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

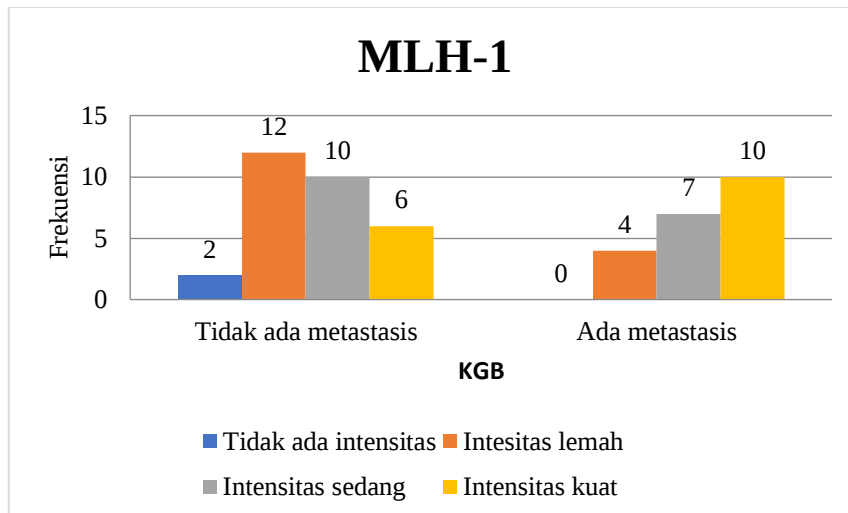
Penelitian ini melibatkan 51 pasien dengan karsinoma kolorektal RS. Kariadi yang telah memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi dari tanggal 1 Januari 2020 hingga dengan 31 Desember 2022.

Tabel 1. Hubungan ekspresi MLH-1 dengan status metastasis KGB

MLH-1	Frekuensi (%)	KGB		<i>p</i>
		Tidak metastasis	Ada metastasis	
		Total = 30	Total = 21	
		N (%)	N (%)	
Tidak ada intensitas	2 (3,9)	2 (100)	0 (0)	0,016*
Intensitas lemah	16 (31,3)	12 (75)	4 (25)	
Intensitas sedang	17 (33,5)	10 (58,8)	7 (41,2)	
Intensitas kuat	16 (31,3)	6 (37,5)	10 (62,5)	

Hasil uji hubungan ekspresi MLH-1 terhadap status metastasis KGB dilakukan dengan uji *Chi-Square* dan dilanjutkan uji alternatif dengan menggunakan uji *Mann-Whitney*. Dari analisis yang dilakukan, di-

peroleh nilai $p = 0,016$ ($p < 0,05$), yang mengindikasikan adanya hubungan yang signifikan antara ekspresi MLH-1 dan status metastasis KGB. (Tabel 1).



Grafik 1. Hubungan ekspresi MLH-1 dengan status metastasis KGB

Pembahasan

Berdasarkan perhitungan statistik dalam menilai ekspresi MLH-1 dengan status metastasis KGB menunjukkan nilai signifikansi $p=0,016$ ($p<0,05$) yang berarti ada hubungan bermakna antara ekspresi MLH-1 dengan status metastasis KGB.

Penelitian oleh Zhao L mengatakan bahwa ekspresi MLH-1 lebih tinggi pada tumor dengan metastasis KGB, hal ini sejalan dengan penelitian kami yang mana status metastasis KGB yang positif memberikan ekspresi MLH-1 dengan intensitas kuat.¹³

Hasil ekspresi MLH-1 dapat dipengaruhi oleh beberapa jalur, diantaranya adalah jalur microsatellite instability (MSI). Defek dari gen MMR terbanyak adalah MLH-1. Perubahan yang berlangsung pada tingkat genetik dapat mengakibatkan perubahan pada fenotipe, yang sering kali berhubungan dengan parameter klinikopatologis, seperti metastasis pada kelenjar getah bening seperti yang didapatkan dari penelitian Alinta S yang sejalan dengan penelitian kami.¹⁴

Penelitian oleh Shidong *et al.* dengan metode retrospektif pada 391 pasien karsinoma kolorektal, didapatkan ekspresi MLH-1 yang rendah, sebagaimana dianalisis melalui imunohistokimia, ditemukan sebagai faktor risiko potensial untuk metastasis kelenjar getah bening pada karsinoma kolorektal, hal

ini berbeda dengan penelitian kami dimana ekspresi MLH-1 dengan intensitas yang kuat memiliki potensial metastasis KGB. Hal ini kemungkinan dapat disebabkan oleh karena adanya perbedaan jalur (pathway) metastasis yang dapat menyebabkan perbedaan ekspresi intensitas.¹⁵

KESIMPULAN

Ekspresi MLH-1 pada pasien karsinoma kolorektal di RS Dr. Kariadi yaitu tanpa intensitas sebanyak 2 (3,9%), intensitas lemah sebanyak 16 (31,37%), intensitas sedang sebanyak 17 (33,33%) dan intensitas kuat sebanyak 16 (31,37%).

Status metastasis kelenjar getah bening pada pasien karsinoma kolorektal di RS. Kariadi yaitu tidak ada metastasis sebesar 30 sampel jaringan (58,82%) dan ada metastasis sebesar 21 sampel jaringan (41,17%).

Terdapat keterkaitan yang signifikan antara ekspresi MLH-1 dengan status metastasis KGB pada karsinoma kolorektal dengan arah hubungan positif, semakin kuat intensitas ekspresi MLH-1, kemungkinan terjadinya metastasis KGB semakin besar.

DAFTAR PUSTAKA

1. Nagtegaal ID, Odze RD, Klimstra D, Paradis V, Rugge M, Schirmacher P, et

- al. The 2019 WHO classification of tumours of the digestive system. *Histopathology*. 2020;76(2):182–8.
2. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global cancer statistics 2020: Globocan estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*. 2021;71(3):209–49.
3. Keum NN, Giovannucci E. Global burden of colorectal cancer: Emerging trends, risk factors and prevention strategies. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2019;16(12):713–32.
4. Labeda I, Lusikooy RE, Mappincara, Dani MI, Sampetoding S, Kusuma MI, et al. Colorectal cancer survival rates in Makassar, Eastern Indonesia: A retrospective Cohort Study. *Ann Med Surg*. 2022;74:1–7.
5. Hossain MS, Karuniawati H, Jairoun AA, Urbi Z, Ooi DJ, John A, et al. Colorectal Cancer: A Review of Carcinogenesis, Global Epidemiology, Current Challenges, Risk Factors, Preventive and Treatment Strategies. *Cancers (Basel)*. 2022;14(7):1–25.
6. Rawla P, Sunkara T, Barsouk A. Epidemiology of colorectal cancer: Incidence, mortality, survival, and risk factors. *Prz Gastroenterol*. 2019;14(2):89–103.
7. Abdullah M, Meilany S, Trimarsanto H, Malik SG, Sukartini N, Idrus F, et al. Genomic profiles of Indonesian colorectal cancer patients. *F1000Research*. 2023;11(443):1–16.
8. Li C, Liu F, Huang D, Wu Y, Wang Z, Xu Y. The correlation between DNA mismatch repair status and the clinicopathological and molecular features of Chinese sporadic colorectal cancer. *Transl Cancer Res*. 2020;9(1):137–44.
9. Belt EJT, Te Velde EA, Krijgsman O, Brosens RPM, Tijssen M, Van Essen HF, et al. High lymph node yield is related to microsatellite instability in colon cancer. *Ann Surg Oncol*. 2012;19(4):1222–30.
10. Melincovici CS, Boşca AB, Şuşman S, Cutaş A, Mărginean M, Ilea A, et al. Assessment of mismatch repair deficiency, CDX2, beta-catenin and E-cadherin expression in colon cancer: molecular characteristics and impact on prognosis and survival - an immunohistochemical study. *Rom J Morphol Embryol*. 2020;61(3):715–27.
11. Guo L, Yu Z, Li Q, Liang X, Yang L. Correlation of MLH1 and MSH2 levels with clinicopathologic characteristics in colorectal cancer. *Am J Transl Res*. 2023;15(2):1107–16.
12. Kheirleseid EAH, Miller N, Chang KH, Curran C, Hennessey E, Sheehan M, et al. Mismatch repair protein expression in colorectal cancer. *J Gastrointest Oncol*. 2013;4(4):397–408.
13. Zhao L. Mismatch repair protein expression in patients with stage II and III sporadic colorectal cancer. *Oncol Lett*. 2018;15(5):8053–61.
14. Syukri SA, Tofrizal T, Asri A, Agus S. Hubungan ekspresi negatif MLH-1 dengan gambaran klinikopatologik karsinoma kolorektal. *J Kesehatan Andalas*. 2019;8(1S):21.
15. Hu S, Li S, Teng D, Yan Y, Lin H, Liu B, et al. Analysis of risk factors and prognosis of 253 lymph node metastasis in colorectal cancer patients. *BMC Surg*. 2021;21(1):1–8.