

Hubungan Ekspresi Ki-67 dan *E-Cadherin* dengan Kedalaman Invasi Melanoma Malignum Berdasarkan *Clark Level*

Santy Saberko¹, Salmiah Agus¹, Satya Wydy Yenny²

*Departemen Patologi Anatomik¹, Departemen Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin²
 Fakultas Kedokteran, Universitas Andalas/RS Dr. M Djamil
 Padang*

ABSTRAK

Latar belakang

Melanoma malignum (MM) adalah keganasan yang berasal dari sistem melanosit kulit. Tumor ini merupakan tumor paling agresif dari semua keganasan kulit. Tumor dengan ukuran kecil dapat mengalami invasi dan metastasis dengan prognosis buruk. Kedalaman invasi MM berdasarkan *Clark level* merupakan salah satu faktor prognosis penting untuk menentukan ketahanan hidup pasien. Penentuan invasi berdasarkan *Clark level* ini bersifat subjektif maka diperlukan pemeriksaan yang lebih objektif seperti pemeriksaan imunohistokimia Ki-67 dan *E-cadherin*. Pemeriksaan ini diharapkan mampu melihat risiko metastasis pada MM. Proliferasi sel merupakan kunci utama progresi tumor dan dapat diukur dengan pemeriksaan ekspresi Ki-67. *E-Cadherin* merupakan salah satu protein transmembran yang memiliki peran penting dalam proses metastasis tumor. Tujuan penelitian ini untuk menilai ekspresi Ki-67 dan *E-Cadherin* pada kedalaman invasi MM berdasarkan *Clark level*.

Metode

Sampel yang digunakan adalah sebanyak 42 yang terdiri atas 6 sampel MM *Clark level* II, 8 sampel *Clark level* III, 19 sampel *Clark level* IV dan 9 sampel *Clark level* V. Setiap sampel diwarnai dengan pewarnaan imunohistokimia (IHK) Ki-67 dan *E-Cadherin* kemudian dinilai ekspresinya.

Hasil

Ekspresi Ki-67 positif ditemukan pada 42 kasus di mana rerata ekspresi Ki-67 pada *Clark level* II yaitu 12,17%, *Clark level* III 39,38%, *Clark level* IV 57,63% dan *Clark level* V 64,44%. Ekspresi *E-Cadherin* positif pada *Clark level* II sedangkan pada *Clark level* III, IV dan V sebagian besar ekspresi *E-Cadherin* negatif. Melanoma malignum paling banyak ditemukan pada kelompok usia 60-79 tahun, jenis kelamin laki-laki, subtype histopatologik nodular melanoma dan kedalaman invasi *Clark level* IV. Terdapat hubungan bermakna antara ekspresi Ki-67 dan *E-Cadherin* dengan kedalaman invasi berdasarkan *Clark level* $p=0,001$.

Kesimpulan

Ekspresi Ki-67 berbanding lurus dan ekspresi *E-Cadherin* berbanding terbalik dengan kedalaman invasi melanoma malignum berdasarkan *Clark level*. Ekspresi Ki-67 dan *E-Cadherin* mampu memprediksi risiko metastasis pada melanoma malignum.

Kata kunci: melanoma malignum, Ki-67, *E-Cadherin*, kedalaman invasi berdasarkan *Clark level*.

ABSTRACT

Background

Malignant melanoma (MM) is a neoplasia derived from melanocytes. This is the most aggressive cancer of skin. Even small tumors may have a tendency to metastasize and thus lead to a relatively unfavorable prognosis. Malignant melanoma depth of invasion based on Clark level is one of the important prognostic factors to determine survival rate of MM patient. Determination of invasion based on this Clark level is subjective, more objective checks such as Ki-67 and E-Cadherin are required. This examination is expected to see the risk of metastasis in MM. Cell proliferation is the main key for tumor progression and it can be measured with Ki-67 expression. E-cadherin is one of transmembrane protein that plays important role in metastasis. The purpose of this study is to determine correlation between Ki-67 and E-Cadherin expression with depth of invasion of malignant melanoma based on Clark level.

Methods

This is cross sectional study in Padang and Jakarta, with 42 cases of malignant melanoma which have been diagnosed in Pathology Anatomic Laboratory in West Sumatera. Samples were obtained from paraffin block of or tissue from surgery and have been reviewed depth of invasion based on the Clark level. These samples were divided into I-V Clark level group. Ki-67 expression of cells nuclei and expression of E-Cadherin of cells membrane were analyzed using immunohistochemistry assay. One Way Anova bivariate statistical analysis were used and value $p<0.05$ were considered significant.

Results

Positive Ki-67 expression were found in 42 cases, 6 samples with II Clark level, 8 samples with III Clark level, 19 samples with IV Clark level, 9 samples with V Clark level. Malignant melanomas were mostly found in male 60-79 age group and depth of invasion in IV Clark level. Positive E-Cadherin expression in II Clark level. There was significant correlation between Ki-67 and E-Cadherin expression and depth of invasion of malignant melanoma based on Clark level $p=0.001$.

Conclusion

The Ki-67 expression is directly proportional and E-Cadherin inversely proportional to the depth of malignant melanoma invasion based on Clark level. Expression of Ki-67 and E-Cadherin was able to predict the risk of metastasis in Malignant Melanoma.

Key words: malignant melanoma, Ki-67, E-Cadherin, depth of invasion based on Clark level

PENDAHULUAN

Melanoma malignum (MM) adalah keganasan yang berasal dari sistem melanosit kulit. Tumor ini merupakan tumor paling agresif dari semua keganasan kulit. Tumor dengan ukuran kecil dapat mengalami metastasis dengan prognosis buruk.¹⁻³

Berdasarkan data statistik kanker di Amerika Serikat tahun 2008, MM merupakan kanker ke-5 tersering pada laki-laki setelah kanker prostat, paru, kolorektal dan traktus urinarius. Pada perempuan MM merupakan urutan ke-7 setelah kanker payudara, paru, kolorektal, korpus uteri, tiroid dan limfoma non Hodgkin, di luar karsinoma sel basal dan karsinoma sel skuamosa².

Insiden MM kurang lebih 4% dari seluruh tumor ganas kulit, namun merupakan penyebab 75-90% kematian akibat penyakit ini. Insiden MM terus meningkat pada populasi kulit putih terutama pada orang dengan paparan sinar matahari. Insiden kasus baru di Eropa 10-25 per 100.000 penduduk, di Amerika Serikat 20-30 per 100.000 penduduk dan insiden tertinggi ditemukan di Australia sebanyak 50-60 per 100.000 penduduk.^{1,4-6} Di Indonesia insiden tumor ganas kulit sekitar 5,9-7,8% dari seluruh tumor ganas yang ada.⁷

Data epidemiologik tumor ganas kulit di Indonesia yang sudah dipublikasi antara lain, data Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) Kementerian Kesehatan Republik Indonesia tahun 2007, tumor ganas kulit menempati urutan ke-3 dari keseluruhan tumor ganas yang ada.⁸ Berdasarkan data Badan Registrasi Kanker Ikatan Ahli Patologi Indonesia (BRK-IAPI) dan Departemen Kesehatan Republik Indonesia tahun 2011, tumor ganas kulit menempati urutan ke-4 dari 10 tumor ganas primer tersering pada laki-laki dan urutan ke-6 dari 10 tumor ganas primer tersering perempuan. Data BRK-IAPI cabang Padang tahun 2011 mencatat tumor ganas kulit menempati urutan ke-1 dari 10 tumor ganas primer tersering pada laki-laki dan urutan ke-5 dari 10 tumor ganas primer tersering pada perempuan. Dari data ini didapatkan insiden MM menempati urutan ke-3 sebanyak 7% setelah karsinoma sel basal (49%) dan karsinoma skuamosa (44%).⁹ Penelitian Yenny & Sari (2014)¹⁰ yang dilakukan di Sub Bagian Tumor Poliklinik Kulit dan Kelamin RS Dr. Djamil Padang selama periode Januari 2012 sampai September 2014, MM menempati urutan ke-3 sebanyak 7,7% setelah karsinoma sel basal 76,9% dan karsinoma sel skuamosa 15,4%.

Berkembangnya sel melanosit menjadi melanoma melalui beberapa tahapan. Sel melanosit normal menjadi *nevus displastik*, seterusnya menjadi melanoma dengan pertumbuhan radial/horizontal, kemudian tumbuh progresif dengan pola pertumbuhan vertikal yang bersifat invasif dan akhirnya mengalami metastasis ke tempat lain.¹¹

Kasus MM yang ditemukan di negara barat sebagian besar dengan penyebaran superfisial (*Superficial Spreading Melanoma*) yang menunjukkan pola penyebaran secara horizontal. Berbeda dengan kasus MM di Indonesia di mana kasus MM ditemukan sudah pada stadium lanjut disebabkan oleh jenis pertumbuhan dengan pola pertumbuhan vertikal sehingga tumor dapat melakukan invasi pada struktur kulit bagian bawah dalam waktu singkat tanpa atau belum melakukan penyebaran secara horizontal.¹²

Menurut Cruz and Walsh, 2013 standar baku emas yang digunakan untuk menilai kedalaman invasi MM adalah klasifikasi menurut Clark/*Clark level*.¹³ Klasifikasi ini pertama kali dijelaskan oleh Clark pada tahun 1967, yang membagi MM berdasarkan kedalaman invasinya di dalam lapisan kulit. *Clark level* dikelompokkan menjadi lima tingkatan yaitu tingkat I sampai dengan V (*Clark level I-V*).^{2,14-16} Kedalaman invasi *Clark level* ini merupakan salah satu faktor prognosis penting untuk menentukan ketahanan hidup pasien MM.¹⁵ Penentuan invasi berdasarkan *Clark level* ini bersifat subjektif, maka diperlukan suatu pemeriksaan yang lebih objektif yaitu pemeriksaan imunohistokimia Ki-67 dan *E-Cadherin*.

Proliferasi sel merupakan kunci utama progresi tumor dan dapat diukur dengan pemeriksaan imunohistokimia dengan melihat ekspresi Ki-67. Ki-67 merupakan marker proliferasi dan fraksi pertumbuhan tumor dan sudah dipercaya sebagai faktor prognosis dan ketahanan hidup pada pasien melanoma dan kanker lainnya.¹⁷ Karakteristik dari Ki-67 ini secara umum diekspresikan pada sel-sel yang sedang berproliferasi dan tidak pada sel-sel yang istirahat.^{18,19}

Penelitian Anghel *et al.* (2015)¹⁸ menjelaskan hubungan antara Ki-67 dengan proliferasi sel dan kedalaman invasi MM berdasarkan *Clark level*. Penelitian ini menunjukkan bahwa tumor dengan Ki-67 yang rendah terlihat aktivitas proliferasi sel yang rendah sedangkan tumor dengan Ki-67 yang sedang dan tinggi berhubungan dengan peningkatan aktivitas proliferasi sel, angiogen-

esis dan invasi. Ekspresi Ki-67 berkorelasi positif dengan kedalaman invasi MM berdasarkan *Clark level*. Penelitian Daniel *et al.* (2009)¹⁷ menunjukkan ekspresi Ki-67 berkorelasi positif dengan kedalaman invasi sel tumor.

Melanoma malignum lebih sedikit dibanding karsinoma sel basal dan karsinoma sel skuamosa tetapi menjadi penyebab terbanyak menimbulkan kematian pada pasien karena metastasis. Metastasis tumor ini melalui beberapa tahapan di mana hilangnya adhesi sel pada tumor primer, migrasi pada matrik ekstraseluler, sel-sel tumor masuk ke dalam saluran limfe ataupun darah, keluarnya sel-sel dari pembuluh dan akhirnya berdiam pada tempat yang jauh dari lokasi tumor primernya.

Epithelial Mesenchymal Transition (EMT) berperan penting selama proses metastasis sel-sel tumor tersebut dengan melihat ekspresi *E-Cadherin*. *Cadherin* merupakan singkatan dari *calcium dependent adhesion protein* yaitu kelompok besar protein membran yang berperan penting dalam adhesi sel, molekul ini terlokalisasi pada permukaan sel epitel di daerah kontak sel dengan sel yang dikenal sebagai *adherens junction*. *E-Cadherin* adalah salah satu anggota *cadherin* yang merupakan protein transmembran tipe-1, dikode oleh gen CDH1, berperan penting dalam hubungan antar sel yang memastikan bahwa sel-sel dalam jaringan saling terikat bersama. Penurunan ekspresi *E-Cadherin* ini mengurangi kekuatan adhesi antar sel, mengakibatkan peningkatan pergerakan sel yang memudahkan sel-sel kanker berinvasi kedalam jaringan sekitar melewati batas membrana basalis.^{5,20}

E-Cadherin merupakan salah satu pemeriksaan imunohistokimia yang dinilai pada membran sel. Ikatan adhesi antar sel menentukan morfogenesis jaringan dan mengatur proses seluler utama, termasuk di antaranya motilitas, pertumbuhan, diferensiasi dan angka ketahanan hidup. Ikatan *complex E-Cadherin-Catenin* sangat diperlukan dalam stabilisasi adhesi dan fisiologi sel epitel normal. Gangguan adhesi seringkali muncul pada tumor ganas dan dapat meningkatkan migrasi dan proliferasi sel-sel tumor yang dapat berujung pada metastasis.²⁰

Penelitian yang menilai gambaran karakteristik pasien MM serta ekspresi Ki-67 dan *E-Cadherin* pada MM di Sumatera Barat belum ada. Berdasarkan hal tersebut di atas maka penulis tertarik untuk mengetahui lebih lanjut apakah terdapat hubungan antara

ekspresi Ki-67 dan *E-Cadherin* dengan kedalaman invasi MM berdasarkan *Clark level*.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian observasional dengan desain *cross sectional study*. Pada penelitian ini, variabel independen dan dependen diperiksa pada saat yang bersamaan.

Populasi penelitian adalah semua kasus MM yang telah didiagnosis di Laboratorium Patologi Anatomi yang berada di Sumatera Barat yaitu Fakultas Kedokteran Universitas Andalas, RSUP M. Djamil Padang, RSI Ibnu Sina Padang, RSI Siti Rahmah Padang dan RSU Ahmad Mochtar Bukit Tinggi pada periode Januari 2013 sampai dengan Desember 2015.

Sampel penelitian adalah bagian populasi yang sudah memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Kriteria inklusi adalah kasus MM yang didiagnosis di lima laboratorium Patologi Anatomi Sumatera Barat yang mempunyai data lengkap (status, slaid dan blok parafin) pada periode Januari 2013-2015. Kriteria eksklusi adalah kasus MM dengan blok parafin yang rusak atau tidak cukup mengandung jaringan tumor untuk pemeriksaan imunohistokimia Ki-67 dan *E-cadherin*.

Pada penelitian ini semua populasi dijadikan sampel penelitian (*total sampling*). Berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi di dapatkan 42 sampel dan semuanya dilakukan pemeriksaan imunohistokimia Ki-67 dan *E-Cadherin*. Evaluasi Ki-67 menurut Straume O *et al*²¹ pada daerah dengan pewarnaan inti paling kuat (*hot spots*) dinilai dengan pembesaran lemah (x40 atau x100). Setelah ditentukan area yang dipilih, dinilai sekurang-kurangnya 500 sel dengan pembesaran sangat kuat (x1000). Presentase dihitung dari jumlah sel dengan inti imunoreaktif dibagi 500. Evaluasi *E-Cadherin* menurut Jung *et al*²² dinilai difus positif bila ekspresi lebih dari 25%.

Penelitian dilakukan di laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas, RS M. Djamil Padang, RSI Ibnu Sina Padang, RSI Siti Rahmah Padang dan RS Achmad Mochtar Bukittinggi. Pada tempat-tempat tersebut dilakukan pengumpulan data kasus Melanoma Malignum yang telah didiagnosis tahun 2013-2015 berupa slaid HE dan blok parafin. Pemeriksaan ulang mikroskopik slaid dan analisis data dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang, sedangkan pewarnaan imunohisto-

kimia Ki-67 dan *E-Cadherin* dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

HASIL

Tabel 1. Karakteristik umum dan kedalaman invasi MM berdasarkan *Clark level*.

Karakteristik	F (n=42)	%
Umur (tahun)		
20-39	3	7,1
40-59	13	30,9
60-79	18	42,9
>80	8	19,1
Jenis kelamin		
Laki-laki	24	57,1
Perempuan	18	42,9
Kedalaman invasi <i>Clark level</i>		
<i>Clark level</i> II	6	14,3
<i>Clark level</i> III	8	19,0
<i>Clark level</i> IV	19	45,2
<i>Clark level</i> V	9	21,4

Tabel 1 memperlihatkan penderita MM berdasarkan karakteristik umum dan kedalaman invasi *Clark level*. Melanoma malignum ditemukan paling banyak pada kelompok usia 60-79 tahun (42,9%), dengan usia rerata 62 tahun. Melanoma malignum banyak terjadi pada laki-laki (57,1%) dengan perbandingan laki-laki dan perempuan 1,3:1. Nodular Melanoma mendominasi sub tipe histopatologi serta berdasarkan kedalaman invasi *Clark level* paling banyak ditemukan *Clark level* IV (45,2%). Tidak ditemukan kasus *Clark level* I pada penelitian ini.

Sebelum dilakukan uji statistik, terlebih dahulu dilakukan uji normalitas data dengan *Shapiro-Wilk* dan didapatkan data terdistribusi normal. Ekspresi Ki-67 pada penelitian ini positif pada semua tingkatan *Clark level* di mana *Clark level* II sebanyak 6 sampel, *Clark level* III 8 sampel, *Clark level* IV 19 sampel dan *Clark level* V 9 sampel. Penilaian risiko tinggi metastasis dan risiko rendah metastasis dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Ekspresi Ki-67.

Kedalaman invasi <i>Clark level</i>	Ekspresi Ki-67 < 20%	Ekspresi Ki-67 ≥ 20%
<i>Clark level</i> II	5	1
<i>Clark level</i> III	0	8
<i>Clark level</i> IV	0	19
<i>Clark level</i> V	0	9

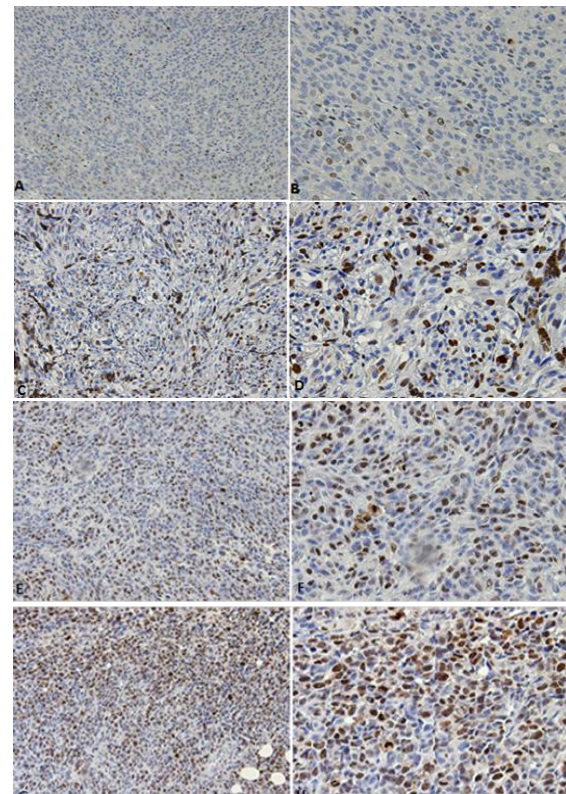
Berdasarkan tabel 2 ekspresi Ki-67 paling banyak adalah ≥ 20% yaitu 37 kasus (88,1%) dan 5 kasus ekspresi Ki-67 <20% (11,9%). Perbedaan ekspresi Ki-67 dengan kedalaman invasi MM berdasarkan *Clark level*, berdasarkan nilai persentase dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Perbedaan ekspresi Ki-67 pada kedalaman invasi MM berdasarkan *Clark level*.

Kedalaman invasi <i>Clark level</i>	Median (min-maks)	p
<i>Clark level</i> II	12,17 (5-25)	
<i>Clark level</i> III	39,38 (25-50)	0,001*
<i>Clark level</i> IV	57,64 (20-90)	
<i>Clark level</i> V	64,44 (40-90)	

One Way Anova Test

Tabel 3 memperlihatkan nilai persentase ekspresi Ki-67 paling tinggi pada MM dengan *Clark level* V (64,44%). Secara statistik perbedaan ekspresi Ki-67 pada kedalaman invasi MM berdasarkan *Clark level* menunjukkan hubungan yang bermakna p=0,001 (p<0,05). Hasil ekspresi Ki-67 berbanding lurus dengan kedalaman invasi *Clark level* di mana semakin tinggi kedalaman invasinya pada lapisan kulit semakin tinggi pula nilai ekspresi Ki-67nya, hasil ekspresi Ki-67 dapat dilihat pada Gambar 1.

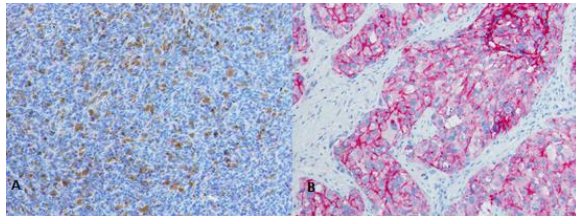


Gambar 1. Ekspresi Ki-67, A-B *Clark level* II dengan ekspresi Ki-67 10% (pembesaran x100 dan x200), C-D *Clark level* III ekspresi Ki-67 45% (pembesaran x100 dan x200), E-F *Clark level* IV dengan ekspresi Ki-67 70% (pembesaran x100 dan x200), G-H *Clark level* V ekspresi Ki-67 85% (pembesaran x100 dan x200).

Hubungan ekspresi *E-Cadherin* pada kedalaman invasi MM berdasarkan *Clark level* yang dinilai berdasarkan positif dan negatif dapat dilihat pada Tabel 4 dan hasil ekspresi *E-cadherin* dapat dilihat pada Gambar 2. Ekspresi *E-cadherin* dinilai pada kasus MM dengan *Clark level* II-V

Tabel 4. Ekspresi *E-Cadherin*.

Kedalaman invasi <i>Clark level</i>	Ekspresi <i>E-Cadherin</i> Positif (%)	Ekspresi <i>E-Cadherin</i> Negatif (%)
<i>Clark level</i> II	6 (100%)	0 (0%)
<i>Clark level</i> III	2 (25%)	6 (75%)
<i>Clark level</i> IV	6 (31,58%)	13 (68,42%)
<i>Clark level</i> V	2 (22,22%)	7 (77,78%)



Gambar 2. Hasil pewarnaan imunohistokimia, A. Ekspresi *E-Cadherin* negatif pada kasus *Clark level* IV (pembesaran x200) B. Ekspresi *E-Cadherin* positif pada kasus *Clark level* III (pembesaran x200).

Perbedaan ekspresi *E-Cadherin* dengan kedalaman invasi MM berdasarkan *Clark level*, berdasarkan skor (penjumlahan persen terwarnai merah dengan intensitas pewarnaan *E-cadherin*) dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Perbedaan ekspresi *E-Cadherin* pada kedalaman invasi MM berdasarkan *Clark level*.

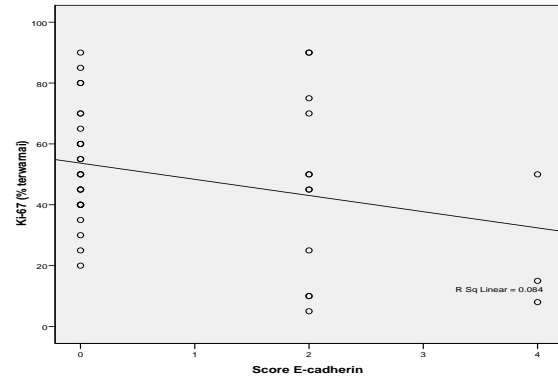
Kedalaman invasi <i>Clark level</i>	Median skor <i>E-Cadherin</i> (min-maks)	p
<i>Clark level</i> II	2,67 (2-4)	0,002*
<i>Clark level</i> III	0,75 (0-4)	
<i>Clark level</i> IV	0,63 (0-2)	
<i>Clark level</i> V	0,22 (0-2)	

Kruskal-Wallis Test

Tabel 5 memperlihatkan skor ekspresi *E-Cadherin* paling tinggi pada MM dengan *Clark level* 2 (2,67%). Secara statistik perbedaan ekspresi *E-Cadherin* pada kedalaman invasi MM berdasarkan *Clark level* menunjukkan hubungan yang bermakna $p=0,002$ ($p<0,05$).

Hubungan ekspresi Ki-67 dan *E-Cadherin* pada kedalaman invasi MM berdasarkan *Clark level* secara statistik menggunakan *nonparametric correlation*, (Spearman's

rho) hasilnya menunjukkan hubungan terbalik dan dapat dilihat pada Grafik 2.



Grafik 1. Hubungan terbalik antara ekspresi Ki-67 dan *E-Cadherin* di mana semakin dalam invasi MM berdasarkan *Clark level* semakin ekspresi Ki-67 tinggi namun semakin rendah ekspresi *E-Cadherin*.

DISKUSI

Pada penelitian ini ekspresi Ki-67 positif pada 42 kasus, sebanyak 37 kasus dengan ekspresi Ki-67 $\geq 20\%$ yang menunjukkan risiko tinggi terjadinya metastasis, di mana 1 kasus pada *Clark level* II, 8 *Clark level* III, 19 *Clark level* IV dan 8 *Clark level* V. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pada *Clark level* III sudah menunjukkan risiko terjadinya metastasis. Hasil penelitian ini mendukung penelitian Cohort yang dilakukan Gimotty (2005)²³ pada pasien MM di Amerika selama 19 tahun melaporkan ekspresi Ki-67 lebih dari 20% memiliki risiko yang lebih tinggi untuk metastasis dengan prognosis yang lebih buruk.

Pada penelitian ini penilaian ekspresi Ki-67 berdasarkan persentase didapatkan *Clark level* II rerata 12,17%, *Clark level* III rerata 39,38%, *Clark level* IV rerata 57,64% dan *Clark level* V rerata 64,44%. Terlihat peningkatan ekspresi Ki-67 dari *Clark level* II hingga *Clark level* V dengan nilai $p<0,05$ yang berarti terdapat hubungan bermakna antara ekspresi Ki-67 dengan kedalaman invasi MM berdasarkan *Clark level*. Hasil penelitian ini hampir sama dengan penelitian Anghel (2015) terdapat peningkatan rerata ekspresi Ki-67 dari *Clark level* II hingga *Clark level* V.

Penelitian yang dilakukan Daniel (2009)¹⁷ menilai ekspresi Ki-67 pada tumor primer dengan yang metastasis, pada 48 kasus di mana 38 kasus pada tumor primer dan 10 kasus pada kelenjar getah bening (KGB). Penelitiannya melaporkan ekspresi Ki-67 pada KGB dua kali lebih tinggi dibanding pada tumor primer. Dengan demikian kasus

MM dengan ekspresi Ki-67 yang lebih tinggi dapat melihat risiko metastasis dan menilai prognosis yang lebih buruk. Kedalaman invasi *Clark level* ditambah pemeriksaan Ki-67 dapat menentukan prognosis dan melihat risiko metastasis.

Penelitian ini juga menilai ekspresi *E-Cadherin* pada membran sel. Skor ekspresi *E-Cadherin* positif 100% ditemukan pada *Clark level* II. *Clark level* III, IV dan V skor ekspresi *E-Cadherin* sebagian besar adalah negatif. Perbedaan ekspresi *E-Cadherin* signifikan terlihat pada *Clark level* II ke III di mana pada *Clark level* II semua ekspresi positif dan mulai pada *Clark level* III ekspresi *E-Cadherin* berkurang sampai hilang. Peneliti berasumsi bahwa pada *Clark level* II-III mempunyai risiko untuk metastasis dan hal ini butuh penelitian lebih lanjut.

Penelitian yang dilakukan Yan *et al.* (2016)²⁰ di USA melaporkan ekspresi *E-Cadherin* hilang atau negatif pada melanoma metastasis jika dibanding dengan melanoma primer. Demikian juga dengan penelitian Bachamann *et al.*²⁰ mendapatkan terjadi penurunan ekspresi *E-Cadherin* dan peningkatan ekspresi *N-Cadherin* dari melanoma primer ke melanoma metastasis. Penelitian yang dilakukan Tucci *et al.*²⁰ menunjukkan rendahnya level ekspresi *E-Cadherin* berhubungan dengan prognosis yang buruk. Penelitian ini bertujuan untuk melihat perbedaan ekspresi *E-Cadherin* pada MM berdasarkan kedalaman invasi *Clark level*, dan di dapatkan bahwa semakin tinggi kedalaman invasi *Clark level* semakin hilang ekspresi *E-Cadherin* nya.

Hasil penelitian ini menunjukkan hubungan terbalik antara ekspresi Ki-67 dan *E-Cadherin* dengan kedalaman invasi MM berdasarkan *Clark level*. Perbedaan yang signifikan pada ekspresi Ki-67 terlihat pada *Clark level* II-III demikian juga dengan ekspresi *E-Cadherin* signifikan terlihat pada *Clark level* II-III. Menarik pada penelitian ini bahwa MM pada *Clark level* II-III mempunyai perbedaan yang signifikan baik pada ekspresi Ki-67 dan *E-Cadherin* di mana diasumsikan memiliki risiko untuk metastasis. Penelitian ini menunjukkan hubungan ekspresi Ki-67 dengan kedalaman invasi MM berdasarkan *Clark level*, di mana semakin dalam invasinya semakin tinggi ekspresi Ki-67 dan semakin dalam invasinya semakin hilang ekspresi *E-Cadherin*.^{17,18,23}

KESIMPULAN

Terdapat hubungan bermakna antara ekspresi Ki-67 dan *E-Cadherin* dengan kedalaman

invasi melanoma malignum berdasarkan *Clark level*, di mana semakin tinggi kedalaman invasinya semakin tinggi ekspresi Ki-67 nya dan semakin rendah ekspresi *E-Cadherin* nya.

DAFTAR PUSTAKA

1. Garbe C, Peris K, Hauschild A, Saiag P, Middleton M, Bastholt M, *et al.* Diagnosis and treatment of melanoma-up date. *EJC*. 2016; 163: 201-17.
2. Patterson and Marchetti. Melanocytic tumor in Practical Skin Pathology. Philadelphia: Saunders; 2013, pp. 665-98.
3. Xhemalaj D, Alimehmeti M, Oupadia S, Ikonomi M, Berdica L, Pumo G *et al.* Breslow thickness and Clark level evaluation in Albanian cutaneous melanoma. *J Turk Acad Dermatol*. 2016; 10: 1-5.
4. Bailey. Cutaneous Melanoma in: Goldsmith, LA, Gilchrist, BA, Paller, AS, Leffel, DJ, Wolff, Fitzpatrick's dermatology in general medicine. 8th ed. Philadelphia: WB Saunders Co; 2012, pp. 2431-46.
5. Li LT, Jiang G, Zheng JN 2015. Ki-67 is a promising molecular target in the diagnosis of cancer. *Mol Med Report*. 2015; 11: 1566-72.
6. Swetter and Kanzler 2016. Malignant melanoma. Available at [On-line] URL: [http:// www.emedicine.com/derm/topic257.htm](http://www.emedicine.com/derm/topic257.htm).
7. Suharyanto B, Prasetyo R. Melanoma maligna dan permasalahannya. Berkala Ilmu Penyakit Kulit dan Kelamin Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. 2004; 16: 16-9.
8. Laporan Hasil Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) Indonesia 2007. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
9. Badan Registrasi Kanker Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Anatomi 2011, Kanker di Indonesia Tahun 2011 Data Histopatologik, Direktorat Jenderal Pelayanan Medik Departemen Kesehatan RI. Jakarta: Yayasan Kanker Indonesia; 2011.
10. Yenny SW, Sari MM. Insiden tumor ganas kulit di Sub Bagian Tumor Poli Kulit dan Kelamin RS Dr. M. Djamil Padang Januari 2012-September 2014. *MKA*; 37: 11-13.
11. Bennett BC. Human melanocyte senescence and melanoma susceptibility genes. *Oncogene*. 2003; 22: 3063-9.
12. Tjandra L. D1 Siklin Ekspresi Protein Dalam Melanoma Ganas dan Nevi

- Melanocytic. 2010. Fakultas Kedokteran Universitas Wijaya Kusuma, Surabaya.
13. Cruz and Walsh. Tumors of the Skin in Diagnostic Histopathology of Tumors. 4th ed. Philadelphia: Elsevier; 2013. pp. 1725-46.
 14. LeBoit, Burg, Weedon, Sarasin. Melanocytic Tumor in Pathology and Genetics of Skin Tumours. France: Lyon; 2006, pp. 49-118.
 15. Elder. Benign pigmented lesion and melanoma in Lever's Histopathology of the skin. 10th ed, Philadelphia: Wolters Kluwer; 2015, pp. 853-968.
 16. Patterson. Lentiginus, Nevi and Melanoma in Weedon's Skin Pathology. 4th ed. Spain: Elsevier. 2016, pp. 838-900.
 17. Daniel K, Dziegiel P. The expression of MT1 melatonin reseptor and Ki-67 antigen in melanoma malignum. Anticancer Res. 2009; 29: 3887-96.
 18. Uguen, Talagas, Costa, Duigou, Bouvier, DP. A p16-ki67-HMB45 immunohistochemistry scoring system as an ancillary diagnostic tool in the diagnosis of melanoma. Res Article. 2015; 195: 1-10.
 19. Anghel AE, Ene CD, Neagu M, Nicolae I, HVM. The relationship between interleukin 8 and ki67 in cutaneous malignant melanoma. Int J Bioflux Soc. 2015; 7: 149-54.
 20. Yan S, Holderness BM, Li Z, Seidel GD, Gui J, Fisher JL. Epithelial-mesenchymal expression phenotype of primary melanoma and matched metastases relationship with overall survival. Anticancer Res. 2016; 36: 6449-59.
 21. Jung JE, Junior RA, Gennaro L, Ghosleme FE, Martin APC, Hirth CG *et al.* Immunohistochemical assessment of E-cadherin, b-catenin, CEACAM-1 and PTEN: tumor progression markers in melanoma. J Bras Patol Med Lab. 2010; 46: 41-8.
 22. Straume O, Sviland L, Akslen LE. Loss of nuclear p16 protein expression correlation with increase tumor cell proliferation (Ki-67) and poor prognosis in patient with vertical growth phase melanoma. Clin Cancer Res. 2000; 6: 15-53
 23. Gimotty PA, Belle PP, Elder DE, Murry T, Montone KT, Xu X *et al.* Biologic and prognostic significance of dermal ki67 expression, mitoses, and tumorigenicity in thin onvasive cutaneous melanoma. J Clin Oncol. 2005; 23: 1-11.