

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Karakteristik Subjek Penelitian

Penelitian ini menggunakan 30 preparat dengan pewarnaan HIF 1- α dari 14 perempuan dan 16 laki-laki yang memiliki karakteristik berbeda-beda. Desain penelitian yang digunakan adalah *cross sectional*, yaitu jenis penelitian yang pengukuran variabel - variabelnya hanya dilakukan pada satu saat. Metode penelitian ini termasuk dalam kriteria penelitian analitik kategorik tidak berpasangan, karena penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan ekspresi HIF 1- α terhadap jenis tumor pasien kanker kolorektal.

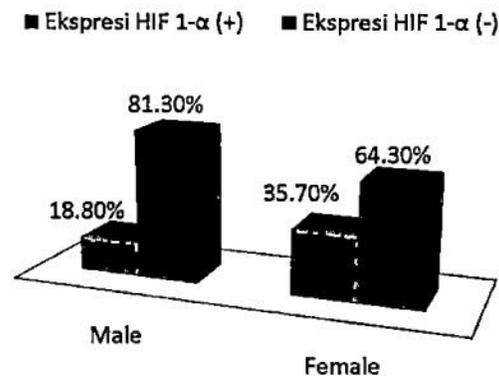
Tabel 3. Hasil Analisis Ekspresi HIF 1- α Terhadap Karakteristik Subyek Kanker kolorektal.

Karakteristik	HIF 1- α (+)		HIF 1- α (-)		Total	P	
	Jumlah	Presentase	Jumlah	Prsentase		2-Sided	1-Sided
Jenis Kelamin							
Male	3	18,8%	13	81,3%	16		
Female	5	35,7%	9	64,3%	14	0,417	0,263
Total	8	26,7%	22	73,3%	30		
Umur							
<60	6	27,3%	16	72,7%	22		
>60	2	25,0%	6	75,0%	8	1,000	0,645
Total	8	26,7%	22	73,3%	30		

Menggunakan uji *chi square* dan *Fisher p* = Nilai signifikansi dimana jika $p > 0,05$ berarti tidak memiliki hubungan yang signifikan dan $p < 0,05$ berarti memiliki hubungan yang signifikan.

Peneliti melakukan pendataan pada karakteristik subjek yang telah memenuhi kriteria inklusi dan eklusi, hal ini bertujuan untuk mengetahui apakah ada hubungan antara karakteristik subjek dengan ekspresi HIF 1- α pada kanker kolorektal. Adapun karakteristik subjek pada penelitian ini yaitu jenis kelamin dan umur (tabel 3). Karakteristik subjek pada penelitian ini di uji dengan uji *chi-square* dengan alternatif uji *Fisher*.

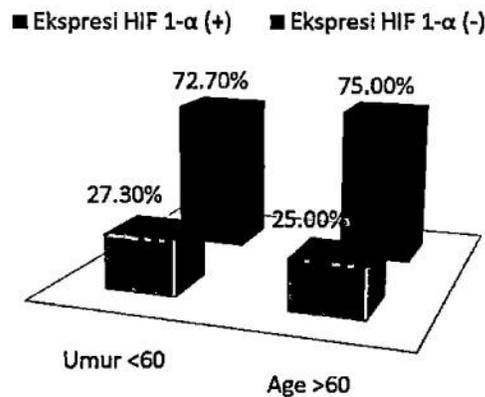
Pada hasil analisis dengan uji *chi-square* didapatkan nilai *expected value* kurang dari 5, sehingga uji alternatif yang digunakan untuk tabel 2 x 2 adalah uji *Fisher*. Hasil uji analisis pada tabel didapatkan nilai signifikansi $p = > 0,05$, yang berarti tidak terdapat hubungan yang signifikan ekspresi HIF 1- α terhadap jenis kelamin dan umur pada pasien kanker kolorektal.



Gambar 7. Diagram Presentase Analisis Ekspresi HIF 1- α pada setiap Jenis Kelamin.

Pada gambar 7, menunjukkan hasil analisis karakteristik subjek terhadap ekspresi HIF 1- α dari uji *chi square* dan *fisher*. Pada karakteristik subjek jenis kelamin laki – laki (*male*) dengan total sampel 16 didapatkan 3 (18,8%) sampel untuk HIF 1- α (+) dan 14 (81,30%) untuk HIF 1- α (-).

Sedangkan pada karakteristik subjek jenis kelamin wanita (*female*) dari total 14 sampel, didapatkan 5 (35,70%) sampel untuk HIF 1- α (+) dan 9 (64,30%) sampel untuk HIF 1- α (-).



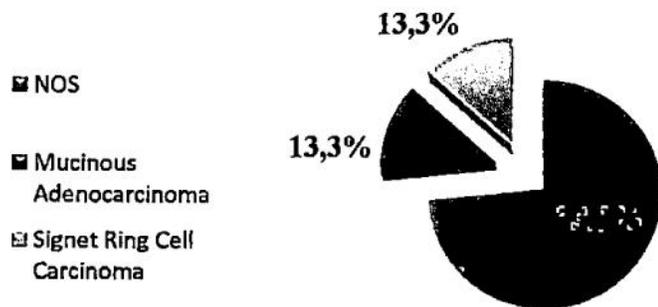
Gambar 8. Diagram Presentase Hasil Analisis Ekspresi HIF 1- α pada kelompok Umur.

Karakteristik subjek umur pada penelitian ini dibagi menjadi 2 kelompok yaitu sampel yang memiliki umur kurang dari 60 tahun dan lebih dari 60 tahun. Pada gambar 8, menunjukkan total dari karakteristik umur < 60 tahun, sebanyak 22 sampel, didapatkan 6 (27,30%) untuk HIF 1- α (+) dan 16 (72,70%) sampel untuk HIF 1- α (-), sedangkan pada karakteristik subjek umur > 60 tahun dengan total sampel 8, didapatkan 2 (25,0%) untuk HIF 1- α (+) dan 6 (75,0%) untuk HIF 1- α (-).

B. Hasil Penelitian

Penelitian ini menggunakan 30 sample. Objek penelitian ini adalah preparat kanker kolorektal yang dikirim ke Laboratorium Patologi Anatomi

Cito Yogyakarta pada bulan Januari 2011 sampai Mei 2012 yang telah memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Metode sampling yang digunakan adalah sistem acak (*Simple Random Sampling*). Jumlah keseluruhan sampel sebanyak 30 sampel, yang terdiri dari jenis tumor *Not Otherwise Significant* sebanyak 22 (73,3 %) sampel, *Mucinous Adenocarcinoma* 4 (13,3%) sampel dan *Signet Ring Cell Carcinoma* 4 (13,3%) sampel.



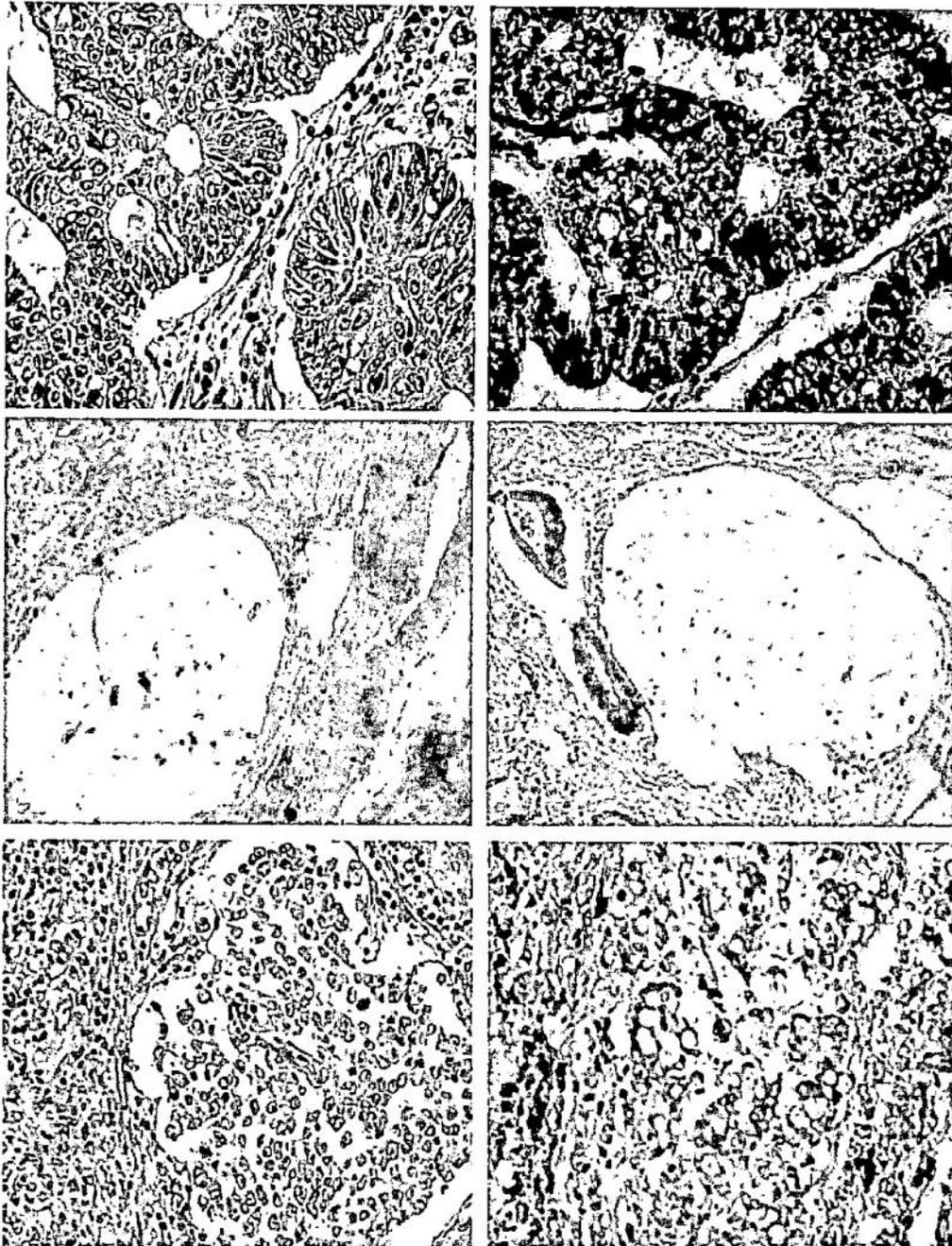
Gambar 9. Diagram Presentase Jumlah Sampel

Ekspresi HIF 1- α dikategorikan menjadi (-) apabila sediaan tidak menunjukkan ekspresi HIF 1- α sama sekali atau terdapat $\leq 49\%$ pada sediaan, (+) apabila ekspresi HIF-1 α terdapat $> 50\%$ pada sediaan. Sedangkan jenis tumor kanker kolorektal pada penelitian ini disesuaikan dengan kriteria WHO (2000) *Pathology and Genetics of Tumours of the Digestive System* dan hasil pemeriksaan patologi anatomi pada rekam medis pasien. Jenis tumor kanker kolorektal yang diteliti pada penelitian ini yaitu *Not Oterwise Significant*, *Mucinous Adenocarcinoma* dan *Signet Ring cell Carcinoma*.

Penelitian ini menggunakan uji hipotesis komparatif/asosiatif dengan skala pengukuran ekspresi HIF 1- α adalah nominal dan jenis tumor adalah

kategorik (ordinal) dengan menggunakan tabel 2 x 3 sehingga uji statistik analisis yang digunakan adalah uji *chi-square* dengan uji alternatif *Kolmogrof Smirnof*. Pembacaan secara mikroskopis pada preparat jenis tumor kanker kolorektal yang telah mengalami pengecatan imunohistokimia meliputi pengamatan ekspresi dari HIF 1- α yang dihubungkan dengan umur, jenis kelamin dan jenis tumor kanker kolorektal.

Berikut hasil pengamatan secara mikroskopis pada preparat jenis tumor *Not Otherwise Significant*, *Mucinous Adenocarcinoma* dan *Signet Ring Cell Carcinoma* pada kanker kolorektal :



Gambar 10. Mikroskopis Kanker Kolorektal

- Atas : Jenis *Not Otherwise Significant* (NOS)
 Tengah : Jenis *Mucinous Adenocarcinoma* (MA)
 Bawah : Jenis *Signet Ring Cell Carcinoma* (SRC)
 Kiri : Pengecatan HE
 Kanan : Pengecatan Imonohistokimia HIF 1- α
 HIF 1- α : NOS (+), MA (-), SRC (+)

Tabel 4. Hasil Analisis Ekspresi HIF 1- α Terhadap Jenis Tumor Kanker Kolorektal.

Jenis Tumor	HIF 1- α (+)		HIF 1- α (-)		Total	Nilai p
	Jumlah	Persentase	Jumlah	Persentase		
NOS	5	22,7%	17	77,3%	22	0,547
Mucinous	0	0%	4	100%	4	
SRC	3	75,0%	1	25,0%	4	
Total	8	26,7%	22	73,3%	30	

Menggunakan uji *chi square* dan uji alternatif *Kolmogrov Smirnov* p = Nilai signifikansi dimana jika $p > 0,05$ berarti tidak memiliki hubungan yang signifikan dan $p < 0,05$ berarti memiliki hubungan yang signifikan.

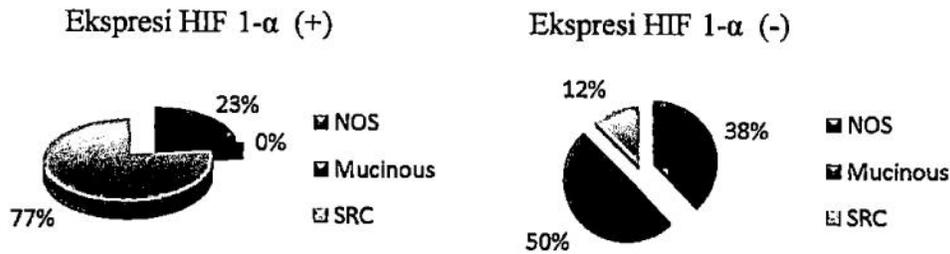
Pada Tabel 4, didapatkan nilai $p = 0,547$ ($p = > 0,05$) yang menunjukkan bahwa tidak terdapat hubungan yang signifikan antara ekspresi HIF 1- α terhadap jenis tumor kanker kolorektal.

Tabel 5. Hasil Analisis Ekspresi HIF 1- α Terhadap Jenis Tumor NOS dan *Signet Ring Cell* Kanker Kolorektal.

Jenis Tumor	HIF1- α		Total	Nilai p
	Positif (+)	Negatif (-)		
NOS	5	17	22	0,072
SRC	3	1	4	
Total	8	18	26	

Menggunakan uji *chi square* dan uji alternatif *Fisher* p = Nilai signifikansi dimana jika $p > 0,05$ berarti tidak memiliki hubungan yang signifikan dan $p < 0,05$ berarti memiliki hubungan yang signifikan.

Pada Tabel 5, didapatkan nilai $p = 0,072$ ($p = > 0,05$) yang menunjukkan bahwa tidak terdapat hubungan yang signifikan antara ekspresi HIF 1- α terhadap jenis tumor NOS dan *Signet Ring Cell* pada kanker kolorektal.



Gambar 16. Diagram Hasil Analisis Ekspresi HIF 1- α Terhadap Jenis Tumor Kanker Kolorektal.

Pada gambar 16, menunjukkan hasil analisis dari uji *kolmogrov Smirnov*, dari data tersebut ekspresi HIF 1- α pada jenis tumor *Not Otherwise Significant* (NOS), dari 22 sampel didapatkan, 5 (22,7%) sampel untuk HIF 1- α positif (+) dan 17 (77,3%) sampel untuk HIF 1- α negatif (-). Sedangkan, pada jenis tumor *Mucinous Adenocarcinoma* dari 4 sampel didapatkan, 4 (0%) sampel untuk HIF 1- α negatif (-) dan pada jenis tumor *Signet Ring Cell* dari 4 sampel, 3 (75%) untuk HIF 1- α positif (+) dan 1 (25%) untuk HIF 1- α negatif (-). Bagan tersebut menunjukkan presentase ekspresi HIF 1- α yang positif dan negatif pada jenis tumor kanker kolorektal.

C. Pembahasan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan ekspresi *Hypoxia Inducible Factor 1- α* (HIF 1- α) terhadap jenis tumor kanker kolorektal *Not Otherwise Significant* (NOS), *Mucinous Adenocarcinoma* dan *Signet Ring Cell Carcinoma*. Pada hasil pembacaan preparat kanker kolorektal yang telah mengalami pengecatan imunohistokimia ekspresi HIF 1- α pada jenis tumor kanker kolorektal *Not Otherwise Significant* (NOS) dari 22 sampel didapatkan, 5 (22,7%) sampel untuk HIF 1- α positif (+) dan 17 (77,3%)

sampel untuk HIF 1- α negatif (-). Sedangkan, pada jenis tumor *Mucinous Adenocarcinoma* dari 4 sampel, didapatkan 4 (0%) sampel untuk HIF 1- α negatif (-) dan pada jenis tumor *Signet- Ring Cell* dari 4 sampel, 3 (75,0%) untuk HIF 1- α positif (+) dan 1 (25,0%) untuk HIF 1- α negatif (-).

Dari data tersebut kemudian dianalisa menggunakan uji *chi-square* setelah dilakukan analisis menggunakan uji *chi square* didapatkan nilai *expected value* kurang dari 5 sehingga uji harus dilanjutkan dengan menggunakan uji alternatif *Kolmogorov- Smirnov*. Hasil uji *Kolmogorov Smirnov* didapatkan nilai $p = 0,547$ atau $p = > 0,05$, yang berarti tidak terdapat hubungan yang signifikan ekspresi HIF 1- α terhadap jenis tumor kanker kolorektal *Not Otherwise Significant* (NOS), *Mucinous Adenocarcinoma* dan *Signet Ring Cell Carcinoma* pada kanker kolorektal. Hal tersebut tidak berkorelasi dengan hasil penelitian lain yang menyebutkan bahwa terdapat hubungan ekspresi HIF 1- α terhadap jenis tumor *Not Otherwise Significant*, *Mucinous Adenocarcinoma* dan *Signet Ring Cell Carcinoma* seperti pada penelitian yang berjudul "*Clinicopathological significance of hypoxia-inducible factor-1 α (HIF 1- α) expression in gastric cancer*" oleh Isobe., *et al.* (2012). Penelitian ini bertujuan untuk menilai signifikansi klinis ekspresi HIF1- α . Ekspresi HIF 1- α dinilai dengan cara analisis imunohistokimia. Hasil dari penelitian ini yaitu didapatkan peningkatan ekspresi HIF1- α yang signifikan ($p = < 0.0016$) pada jenis tumor *Mucinous* atau pun *Signet Ring Cell* dibandingkan dengan *Not Otherwise Significant* (NOS) (Iobe, *et al.*, 2012). Namun, pada penelitian yang telah dilakukan oleh Wincewicz (2007)

et al., menyatakan bahwa ekspresi GLUT-1 dan HIF 1- α pada kanker kolorektal lebih signifikan ditemukan pada jenis tumor *Not Otherwise Specified* daripada *Mucinous Adenocarcinoma*. Perbedaan pada kedua hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa masih terdapat kontroversi mengenai ekspresi HIF 1- α pada jenis tumor, maka diperlukan adanya penelitian lebih lanjut mengenai ekspresi HIF 1- α pada jenis tumor kanker kolorektal

Pada penelitian ini peneliti berhipotesis bahwa terdapat hubungan ekspresi HIF 1- α terhadap jenis tumor *Not Otherwise Significant, Mucinous Adenocarcinoma* dan *Signet Ring Cell Carcinoma* pada kanker kolorektal.

HIF 1- α yang diekspresikan dalam kanker pada manusia sebagai akibat dari keadaan hipoksia intratumoral serta sebagai perubahan genetik, seperti mutasi -fungsi onkogen (misalnya, ERBB2) dan kerugian fungsi mutasi pada gen supresor tumor (misalnya, VHL dan PTEN) (Semenza, 2003). Dalam keadaan hipoksia, HIF 1- α akan masuk dan terakumulasi dalam nukleus (inti sel), dimana HIF ini merupakan transduksi sinyal ekspresi gen beberapa protein, di antaranya adalah beberapa protein penting bagi sel kanker dalam menginduksi peristiwa angiogenesis sel endotel (Maxwell, 2005). Target gen HIF 1- α telah diidentifikasi lebih lanjut dan beberapa terlibat dalam proses metastasis tumor (Liu, *et al.*, 2012). Salah satu target gen tersebut adalah TWIST (*basic helix-loop-helix transcription*) yang merupakan sebuah faktor transkripsi penting dan krusial yang langsung diatur oleh HIF 1- α (Liu, *et al.*, 2012). TWIST berperan sebagai faktor penting yang

memediasi *Epithelial Mesenchymal* (EMT) dan metastasis kanker pada keadaan hipoksia (Liu, *et al.*, 2012).

Signet Ring cell carcinoma (SCC) dan *Mucinous Adenokarsinoma* merupakan jenis tumor yang spesifik pada kanker kolorektal (Chen, *et al.*, 2010). Perbedaan *Biological Behavior* pada jenis tumor tersebut dapat mencerminkan perbedaan perkembangan pada jalur genetiknya (Kim, *et al.* 2002). Selain itu, tingginya stadium T (ukuran tumor) pada jenis tumor mucinous menjadi predictor prognosis yang buruk dan telah diketahui bahwa ekspresi positif dari HIF 1- α dan VEGF sangat signifikan ditemukan pada stadium ukuran tumor T3 - T4 dibandingkan stadium T1 - T2 (Kakar, *et al.*, 2004; Park,*et al.*, 2006; Ma, *et al.*, 2006).

Penelitian oleh Borger *et al.*, (2007) melaporkan bahwa pada jenis tumor NOS dan *Mucinous Adenocarcinoma* mengalami amplifikasi spesifik dari molekul MYC. MYC merupakan salah satu onkogen yang telah diketahui berperan dalam jalur *transcription factor network* untuk meregulasi pertumbuhan tumor pada proses prolifesi, apoptosis, differensiasi, serta angiogenesis (Koshiji, *et al.*, 2004). Sedangkan amplifikasi anti-apoptosis (bcl- 2) secara signifikan ditemukan pada jenis tumor *Signet Ring Cell Carcinoma*. Amplifikasi merupakan salah satu efek dari aktivasi onkogen, jika terbentuk reseptor onkogen berlebih pada permukaan sel tumor, yang menyebabkan sel tumor sangat peka terhadap faktor pertumbuhan yang rendah (Tjandra, 2010). Penelitian ini juga melaporkan bahwa jenis tumor *Mucinous Adenocarcinoma* dan *Signet Ring Cell Carcinoma* berhubungan

dengan peningkatan stadium T dan prognosis yang lebih buruk (Borger, *et al.*, 2007). Selain itu, penelitian yang lain juga menyebutkan bahwa jenis histological *Signet Ring Cell Carcinoma* memiliki mekanisme *biologic behavior* yang masih belum jelas serta keadaan klinis yang berbeda dengan adenocarcinoma lainnya (Kim, *et al.*, 2002).

Hasil Penelitian terbaru oleh Trisciuglio, *et al.*, (2010) melaporkan bahwa bcl- 2 mampu berinteraksi dengan HIF 1- α , karena aktifitas transkripsi Bcl- 2 dan HIF 1- α telah diketahui terjadi di dalam inti sel. Interaksi tersebut menyebabkan bcl-2 mampu untuk mengaktifasi protein HIF 1- α dan *Vascular Endothelial Factor* (VEGF) yang dapat memediasi *new vascularitation*, sehingga berdampak pada pertumbuhan tumor yang lebih agresif (Trisciuglio, *et al.*, 2010).

Pada keadaan normal pergantian dan peremajaan sel terjadi sesuai kebutuhan melalui proliferasi sel dan apoptosis di bawah pengaruh proto-onkogen dan gen supresor tumor (Silalahi, 2006). Namun, bila terjadi gangguan oleh bahan karsinogen yang menyebabkan proto-onkogen berubah menjadi onkogen, maka akan terjadi proliferasi sel abnormal yang tidak diimbangi dengan terjadinya apoptosis sel (Tjandra, 2010). Bcl-2 dikatakan dapat memperlama kelangsungan hidup sel tanpa adanya proses proliferasi sel yang merupakan kategori baru dari suatu onkogen (Ghobrial IM, *et al.*, 2005). Protein ini sering terekspresi berlebihan pada berbagai keganasan meskipun tanpa adanya translokasi kromosom t (14;18) yang mengakibatkan perubahan gen Bcl-2 (Ghobrial IM, *et al.*, 2005).

Proliferasi yang tak terkendali menyebabkan ukuran suatu neoplasma atau tumor mencapai ukuran yang lebih besar, sehingga diperlukan pembentukan neovaskularisasi guna mendukung nutrisi jaringan tumor baru, yaitu dengan menstimulasi sekresi polipeptida seperti IGF (*Insulin like Growth Factor*), PDGF, *granulosit macrophage colony stimulating factor* (GM-CSF) dan IL 1 (Robbins, 2005). Selain itu, pertumbuhan tumor dikontrol oleh keseimbangan antara faktor angiogenik dan faktor yang menghambat proses angiogenesis (Takahashi *et al.*, 2003). Faktor anti angiogenesis antara lain, trombospondin 1, angiostatin, endostatin dan vaskulostatin (Takahashi *et al.*, 2003). Sedangkan faktor angiogenesis adalah *Hypoxia Inducible Factor* (HIF 1- α) (Takahashi *et al.*, 2003; Yoshikawa *et al.*, 2006).

Hypoxia Inducible Factor 1- α (HIF 1- α) merupakan faktor transkripsi yang secara langsung berperan sebagai *transactivates* gen penting untuk pertumbuhan dan metabolisme tumor (Dang *et al.*, 2006). HIF 1- α menginduksi faktor pertumbuhan seperti *insulin-like growth factor-2* (IGF2) dan *transforming growth factor - α* (TGF - α). Pengikatan reseptor faktor pertumbuhan tersebut mengaktifkan jalur sinyal transduksi yang mengaktifkan proliferasi sel dan sekaligus menstimulasi ekspresi HIF 1- α itu sendiri (Krishnamachary, *et al.*, 2003).

Pada jenis tumor NOS dan *Mucinous Adenocarcinoma* terjadi overekspresi dari onkogen MYC (Koshiji, *et al.*, 2004). HIF 1- α dan MYC memiliki fungsi yang sama yaitu sebagai aktivasi proses glikolisis (GLUT 1)

dalam pertumbuhan sel tumor (Koshiji, *et al.*, 2004). Selain itu, berdasarkan literatur, menyebutkan bahwa overekspresi dari MYC berperan pada jalur post – transkripsi level yang berdampak pada peningkatan aktivitas regulasi dari HIF 1- α dan *Vascular endothelial Factor* (VEGF) pada kanker kolorektal (Acton, 2013). HIF 1- α juga berperan sebagai *upregulated* MYC, yang menyebabkan teraktivasinya gen p21 sehingga terjadi pertumbuhan sel tumor yang tak terkendali, hal tersebut berdampak pada terjadinya keadaan hipoksia dan aktivasi HIF 1- α kembali, maka dari itu MYC juga dikatakan sebagai suatu onkogen yang dapat menstabilkan ekspresi HIF 1- α (Koshiji, *et al.*, 2004).

Studi biomolekular yang dilakukan oleh Borger, *et al.*, (2007), melaporkan bahwa pada *Signet Ring Cell Carcinoma* telah terjadi penurunan molekul adhesi (*E-cadherin* dan β -*catenin*) serta peningkatan stadium T (ukuran tumor) yang merupakan amplifikasi dari molekul bcl – 2. Keadaan hipoksia menekan ekspresi *E-cadherin* dan meningkatkan ekspresi MMP - 2 yang mendukung migrasi dan invasi melalui aktivasi HIF 1- α (Jing, *et al.*, 2013). Molekul adhesi-complex (*E-cadherin* dan β -*catenin*) merupakan molekul adhesi sel primer dalam epitel yang berfungsi untuk menjaga *barrier function epithelial* pada kanker kolorektal yang turut diatur oleh HIF 1- α melalui pengaturan langsung TCF3, ZFHX1A, ZFHX1B, dimana pengaturan tersebut berefek terhadap penekanan transkripsi gen molekul adhesi-complex (*E-cadherin* dan β -*catenin*) (Liu, *et al.*, 2012). Hilangnya

protein ini dikaitkan dengan perkembangan tumor yang lebih agresif dan prognosis pasien kanker yang lebih buruk (Liu, *et al.*, 2012).

Kehilangan *E-cadherin* merupakan ciri khas transisi *epithelial-mesenchymal* (EMT), yaitu suatu proses yang berhubungan dengan metastasis sel tumor (Liu, *et al.*, 2012). *E-cadherin* adalah faktor penting untuk neoplasia dan tahap awal tumor genesis, dalam ketiadaan EMT dengan mengubah pertumbuhan faktor respon sel, mengakibatkan proliferasi meningkat dan penurunan apoptosis (ElMoneim *et al.*, 2011). Sung *et al.*, 2008 melaporkan bahwa penurunan ekspresi molekul adhesi sel dengan gangguan resultan kompleks adhesi dapat meningkatkan risiko invasi dan metastasis sel tumor kanker kolorektal. Pada kanker kolorektal perubahan ekspresi *E-cadherin* berkorelasi dengan ukuran, histopatologi serta differensiasi tumor (Sung *et al.*, 2008).

Hasil penelitian dengan *Immunofluoresence* pada jenis tumor *Signet Ring cell Carcinoma* menunjukkan tidak terdeteksinya molekul ekstraselular *E-cadherin* serta terjadinya penurunan molekul β -*catenin*, yang mengindikasikan terjadinya kekacauan molekul adhesi-complex (Borger, *et al.*, 2007). Penurunan molekul adhesi-complex menyebabkan tumor kehilangan kontak dengan jaringan sekitar sehingga terjadinya penyebaran neoplasma secara difus (Borger, *et al.*, 2007). Meski demikian mekanisme yang menyebabkan jenis tumor *Signet Ring Cell Carcinoma* memiliki prognosis yang lebih buruk dibandingkan Jenis histlogical NOS dan *Mucinous Adenocarcinoma* masih belum jelas (Jinn-Shiun Chen, *et al.*, 2010).

Maka dapat disimpulkan bahwa amplifikasi spesifik dari MYC pada jenis tumor NOS dan *Mucinous Adenocarcinoma* dapat berperan dalam aktifasi ekspresi HIF 1- α , GLUT 1, VEGF, dan *upregulation* p21 (*cell growth*) yang pada akhirnya dapat berdampak terhadap kestabilan pertumbuhan neoplasma (Koshiji, *et al.*, 2004). Selain itu, pada jenis tumor *Signet Ring Cell Carcinoma*, HIF 1- α turut berperan dalam penurunan ekspresi molekul *E-cadherin* dan β -*catenin* melalui target gen TWIST, yang dimana hal tersebut merupakan amplifikasi dari molekul bcl-2. Amplifikasi bcl-2 memiliki kontribusi dalam *biological behaviour* yang agresif pada jenis tumor *Signet Ring Cell Carcinoma* (Borger, *et al.*, 2007). Amplifikasi bcl-2 serta penurunan ekspresi molekul adhesi pada jenis tumor *Signet Ring Cell Carcinoma* dapat menjadi salah satu penyebab pertumbuhannya lebih agresif, namun sampai saat ini masih belum diketahui mengapa amplifikasi bcl-2 lebih spesifik pada jenis tumor *Signet Ring Cell Carcinoma* daripada jenis tumor NOS dan *Mucinous Adenocarcinoma* (Borger, *et al.*, 2007; Liu, *et al.*, 2012).

Pada penelitian ini peneliti memiliki hipotesis yaitu "Terdapat adanya hubungan ekspresi HIF 1- α terhadap jenis tumor kanker kolorektal *Not Otherwise Significant* (NOS), *Mucinous Adenocarcinoma* dan *Signet Ring Cell carcinoma*." dan didapatkan nilai signifikansi $p = >0,05$ yang berarti tidak terdapat hubungan antara ekspresi HIF 1- α pada jenis tumor kanker kolorektal. Hal tersebut tidak berkorelasi dengan penelitian serta teori – teori

yang telah ada. Adapun faktor yang mungkin menyebabkan nilai signifikansi menjadi tidak bermakna yaitu :

1. Jumlah sampel penelitian yang tidak sebanding antara jenis tumor NOS dengan jenis tumor *Mucinous Adenocarcinoma* dan *Signet Ring Cell Carcinoma*. Dimana pada penelitian ini menggunakan 30 sampel dengan jenis tumor *Not Otherwise Significant* (NOS) sebanyak 22 (73,3%) sampel, *Mucinous Adenocarcinoma* 4 (13,3%) sampel dan *Signet Ring cell carcinoma* 4 (13,3%) sampel. Tidak meratanya jumlah sampel dapat disebabkan oleh terbatasnya jumlah sampel serta sulitnya mendapatkan sampel yang sesuai dengan kriteria inklusi dan eksklusi pada penelitian ini. Adapun faktor penyebab sulitnya mendapatkan sampel pada penelitian ini yaitu:
 - a. Rendahnya tingkat survival atau kelangsungan hidup dari pasien yang menderita jenis tumor *Mucinous Adenocarcinoma* dan *Signet Ring Cell Carcinoma*.
 - b. Dilaporkan banyak ditemukan sampel jenis tumor kanker kolorektal yang mendapatkan tindakan biopsi dibandingkan dengan tindakan operasi.