

DOI: 10.21009/Bioma19(1).6

Research article

HUBUNGAN EKSPRESI miRNA-21 DENGAN TARGET PDCD4 DAN miRNA-143 DENGAN TARGET BCL-2 PADA KASUS KANKER SERVIKS

Nikki Aldi Massardi¹, Soemanadi^{2*}, Beti Ernawati Dewi³, Dewi Wulandari⁴, Eduardus Gilang Putra⁵

¹ Departemen Patologi Anatomi, Universitas Bengkulu

² Obstetri dan Ginekologi Rumah Sakit Kanker Dharmais

³ Departemen Mikrobiologi, Universitas Indonesia

⁴ Departemen Patologi Klinik, Universitas Indonesia

⁵ Kekhususan Onkologi, Magister Ilmu Biomedik FKUI

* Corresponding author: soemanadi@yahoo.com

ABSTRACT

A study has been carried out to compare the expression of miRNA-21 and miRNA-143 with target mRNA PDCD4 and BCL-2 in cases of early-stage cervical cancer compared to advanced stages. These data can be used as information for the development of non-invasive cervical cancer prognostic methods. The study was conducted by taking serum samples and exfoliative cell samples from normal subjects and subjects with cervical cancer detection and then analyzed using qRT-PCR. Samples of cervical cancer patients consisting of 15 subjects and 4 normal subjects were used to obtain relative quantity values for the expression of miRNA-21, miRNA-143, mRNA PDCD4 and BCL-2. In the study of miRNA-21, there was no significant difference in determining cervical cancer with $p > 0.05$ using the t-test (0.594) and a significant relationship was found between miRNA 21 and PDCD4 with a strong correlation ($p < 0.05$, $r = -0.563$; Pearson). The relationship between miRNA-143 and the Bcl-2 target gene in this study showed a weak and insignificant correlation ($r = -0.101$; $p > 0.05$; Pearson). There was a significant relationship between miRNA-21 and PDCD4 in early-stage and advanced-stage samples, while the relationship between miRNA-143 and the Bcl-2 mRNA target gene showed no significant correlation.

Keywords: miRNA-21, miRNA-143, PDCD4, Bcl-2, Cervical Cancer

PENDAHULUAN

Kanker merupakan penyebab kematian global sebanyak 10% dimana setiap tahunnya diperkirakan terdapat 9 juta kasus baru dan di negara maju menduduki peringkat kedua sebagai penyebab kematian manusia. Kanker menjadi salah satu penyakit yang paling sering ditemukan di dunia (SEER, 2010). Setiap tahun, Sebanyak 200.000 wanita meninggal setiap tahunnya (Forouzanfar *et al.*, 2011). Di Indonesia, berdasarkan data yang didapatkan dari Rumah Sakit Kanker Dharmais (Sinuraya, 2012), dari seluruh pasien keganasan kanker sebanyak 12,10% pasien adalah pasien kanker serviks. Bila digolongkan untuk keganasan kanker yang paling banyak ditemui pada wanita, maka keganasan kanker serviks mencakup sebesar 18,91% dari seluruh

insiden keganasan kanker pada wanita. Lebih jauh lagi, data registrasi kanker serviks menunjukkan dari 1234 kasus kanker serviks, 815 kasusnya adalah kasus karsinoma sel squamosa (KSS). Hal tersebut menunjukkan ada 66% kasus KSS dari seluruh kasus kanker serviks yang ditangani RS. Kanker Dharmais.

Penyakit kanker dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor, dan salah satu faktor yang mempengaruhi adalah faktor genetik. Salah satu faktor genetik yang ditemukan memiliki peran adalah mikro RNA (miRNA). MiRNA merupakan molekul RNA yang tidak mengkode protein, namun berfungsi sebagai regulator ekspresi gen. MiRNA meregulasi target gen sebagai supresor gen tumor atau sebagai onkogen (Appasani, 2008).

Peran miRNA sebagai supresor tumor diteliti pada miRNA *let-7*, yang berfungsi untuk menghambat proliferasi dan memicu diferensiasi sel. Observasi awal yang dilakukan menunjukkan bahwa sel mutan *let-7* tidak dapat menyelesaikan siklus selnya sehingga sel tersebut tidak mengalami diferensiasi terminal melainkan melakukan pembelahan. Studi tersebut menghasilkan hipotesis dimana hilangnya *let-7* dapat menginduksi proliferasi atau penurunan diferensiasi (Appasani, 2008).

Peran miRNA sebagai onkogen pertama kali diteliti pada miRNA-155, yang diproses dari RNA non-kode *B-Cell Integration Cluster* (BIC). BIC diidentifikasi sebagai situs integrasi untuk *lymphomagenesis* yang terinduksi *avian leucosis virus* (ALV). Setelah adanya penemuan miRNA, diketahui bahwa bagian ekson akhir pada RNA BIC merupakan bagian yang diproses untuk menjadi miRNA-155. Penelitian selanjutnya menunjukkan bahwa adanya overekspresi miRNA-155 pada sampel limfoma Hodgins dan galur selnya serta pada sampel limfoma Burkitt. Hal tersebut menunjukkan bahwa terdapat jenis miRNA yang berfungsi sebagai onkogen pada tumorigenesis (Appasani, 2008).

MiRNA-21 adalah miRNA yang diekspresikan berlebih dan memainkan peran onkogenik pada invasi dan metastasis karsinoma serviks. MiRNA-21 bekerja secara langsung pada mRNA PDCD4 di sel HeLa yang menyebabkan meningkatkan proliferasi selular. MiRNA-21 terekspresi berlawanan dengan *programmed cell death protein 4* (PDCD4 yang berfungsi dalam menghambat translasi protein. Pada 3-UTR sel HeLa diperlihatkan peningkatan ekspresi PDCD4 terjadi karena inhibisi MiRNA-21. Telah didata sebelumnya MiRNA-21 diekspresikan berlebih pada sel patologik serviks sebagai oncomir. Ekspresi yang berlebihan dari MiRNA-21 ditemukan pada CIN2 sampai kanker dibandingkan dengan sel normal dengan infeksi HPV positif ataupun negatif (Xu *et al.*, 2013).

Peran miRNA-143 pada kanker serviks telah diketahui melalui studi Liu *et al.* (2012), yang menganalisis tingkat ekspresi miRNA-143 pada pasien kanker serviks serta melakukan eksperimen menggunakan sel HeLa. Tingkat ekspresi miRNA-143 pasien kanker serviks yang dianalisis menunjukkan ekspresi yang rendah pada 86,7% jaringan kanker serviks, dibandingkan jaringan yang tidak kanker. Eksperimen menggunakan sel HeLa yang dilakukan dengan meningkatkan ekspresi miRNA-143 menunjukkan penghambatan proliferasi sel kanker serta menginduksi terjadinya apoptosis.

Berdasarkan penelitian Liu *et al.* (2012) juga diketahui bahwa salah satu target miRNA-143 adalah gen Bcl-2. Eksperimen yang dilakukan dengan meningkatkan ekspresi miRNA-143, menunjukkan terjadi penurunan ekspresi Bcl-2. Bcl-2 merupakan protein membran intraseluler yang berfungsi untuk mencegah terjadinya kematian sel melalui jalur apoptosis. Overekspresi dari protein Bcl-2 dapat memblokir penahanan fase G1 yang dimediasi oleh protein p53 (Shukla *et al.*, 2014). Penelitian Protka *et al.* (2011) menguatkan pernyataan mengenai peran overekspresi Bcl-2 dengan kanker serviks, dan juga mengindikasikan adanya kemungkinan ko-overekspresi antara Bcl-2 dengan c-myc pada kasus karsinoma portio vaginalis uteri. Berdasarkan penelitian Godoy *et al.* (2014), analisis ekspresi Bcl-2, p53 dan Ki-67 dapat menjadi biomarker potensial untuk

mendeteksi stadium dari kanker serviks. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa Bcl-2 merupakan biomarker potensial dalam mendeteksi kanker serviks.

Penelitian mengenai miRNA terdahulu serta jumlah kasus kanker serviks yang tinggi menjadi dasar sehingga penelitian ini bertujuan untuk menilai dan membandingkan ekspresi pada kasus kanker serviks stadium awal dibandingkan dengan stadium lanjut. Data tersebut dapat digunakan sebagai informasi untuk pengembangan metode prognosis non invasif kanker serviks.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan desain penelitian yaitu metode analitik observasional potong lintang untuk mendeteksi tingkat ekspresi miRNA-21, miRNA-143, PDCD4 dan Bcl-2, pada kasus normal dan kasus KSS dengan sampel serum darah dan sel eksfoliatif serviks, menggunakan metode RT-qPCR. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Molekular Penelitian dan Pengembangan RS Kanker Dharmais antara bulan Januari 2016 sampai dengan Oktober 2016. Kriteria inklusi dan eksklusi pada penelitian ini dapat dilihat pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Kriteria inklusi dan eksklusi pada penelitian

Kriteria inklusi (kontrol)	Kriteria inklusi (kasus)	Kriteria eksklusi
Usia > 19 tahun	Usia > 19 tahun	Subjek yang belum terdiagnosa kanker serviks, namun terdeteksi adanya neoplasia berupa neoplasia intraepithelial serviks (NIS)
Aktif secara seksual	Aktif secara seksual	Subjek yang meragukan apakah terdiagnosis kanker serviks atau tidak
Terdiagnosa normal dengan pap smear	Terdiagnosa kanker serviks dengan tipe Karsinoma Sel Squamosa Serviks	
Tidak memiliki riwayat kanker	Tidak memiliki riwayat kanker	

Etik Penelitian

Protokol pada penelitian ini telah mendapatkan persetujuan dari Komite Etik Rumah Sakit Karsinoma Dharmais dengan no LB.02.01/1/1266/2016 dan no LB.02.01/1/1267/2016.

Pengambilan Sampel

Calon subjek penelitian akan diberikan *informed consent* untuk mendapatkan izin kesediaan sebagai subjek penelitian. Subjek yang telah menyetujui *informed consent* akan dicatat data pribadi yang meliputi usia, jenis kelamin, stadium kanker, riwayat kanker dalam keluarga serta hasil laboratorium dikumpulkan. Tes *pap smear* dilakukan oleh dokter umum atau tenaga ahli kepada kelompok kontrol (di bagian deteksi dini) maupun kelompok kasus (di bagian ginekologi onkologi).

Pengolahan dan Preservasi Sampel

Sampel darah sebanyak 3 ml untuk kelompok kontrol dilakukan di lokasi skrining serviks dan payudara RS Kanker Dharmais, sedangkan kelompok kasus diambil di RS Kanker Dharmais bagian Patologi Klinik. Sampel sel eksfoliatif diambil menggunakan metode *pap smear*. Cara kerjanya yaitu, alat apusan serviks digunakan untuk mendapatkan sampel di daerah ekto

endoserviks. Tiap sampel dipreservasi di kontainer khusus untuk tiap subjek dan tiap kontainer berisi larutan DEPC 0,05 % + PBS.

Isolasi RNA Sampel Serum dan Sel Eksfoliatif

Isolasi RNA pada sampel darah dan sampel sel eksfoliatif menggunakan kit *Isolation miRNA* (Exiqon) dengan metode yang dimodifikasi pada tahap sentrifugasi. Pengecekan konsentrasi dan kemurnian sampel menggunakan alat nanodrop. Hasil yang diinginkan adalah nilai konsentrasi asam nukleat positif dan nilai 260/280 antara 1.8-2.00. Kit exiqon telah meliputi untuk metode sintesis cDNA serta protokol untuk qPCR. Sampel yang digunakan untuk qPCR adalah 8µl mix RT solution ditambahkan 2µl sampel (5ng/µl) (Exiqon, 2015).

Analisis Sampel dan Uji Statistik

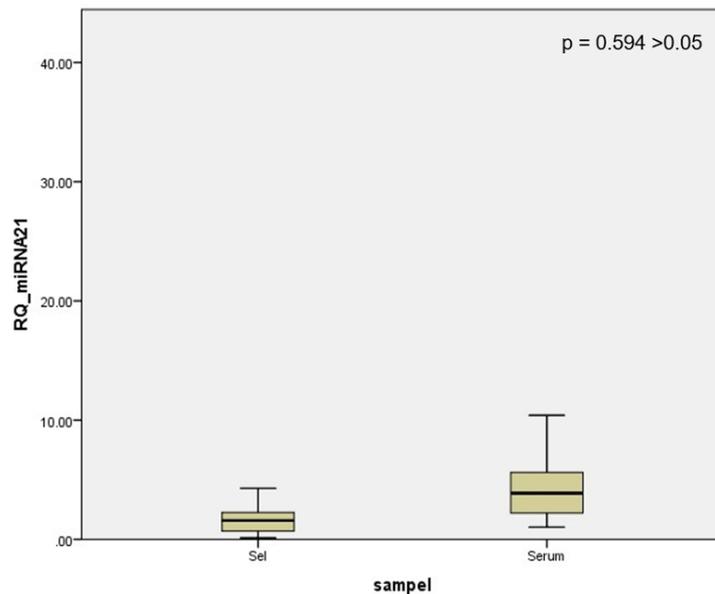
Nilai ekspresi miRNA-21 dan PDCD4 dianalisis dengan menormalisasi nilai *cycle threshold* (Ct) target dengan gen referensinya, yaitu miRNA-16 untuk miRNA-21 dan GAPDH untuk PDCD4. Analisis nilai kelipatan ekspresi gen target dilakukan dengan metode Livak, mengikuti persamaan $\Delta\Delta Ct = 2^{-(\Delta Ct_{\text{sampel}} - \Delta Ct_{\text{kalibrasi}})}$ (dimana $\Delta Ct = Ct_{\text{target}} - Ct_{\text{referensi gen}}$). Untuk mengetahui nilai kuantitas relatif (RQ) yang dibandingkan dengan sampel normal. Uji normalitas dilakukan pada seluruh data hasil penelitian dengan uji Komolgorov-Smirnov. Uji T-Test dan Pearson dilakukan dalam penelitian ini menggunakan program *software* SPSS 20.

Nilai ekspresi miRNA-143 dan Bcl-2 dianalisis dengan menormalisasi nilai *cycle threshold* (Ct) target dengan gen referensinya, yaitu miRNA-16 untuk miRNA-143 dan GAPDH untuk Bcl-2. Analisis nilai kelipatan ekspresi gen target dilakukan dengan metode livak, mengikuti persamaan $\Delta\Delta Ct = 2^{-(\Delta Ct_{\text{sampel}} - \Delta Ct_{\text{kalibrasi}})}$ (dimana $\Delta Ct = Ct_{\text{target}} - Ct_{\text{referensi gen}}$). Untuk mengetahui nilai kuantitas relatif (RQ) yang dibandingkan dengan sampel normal. Uji normalitas dilakukan pada seluruh data hasil penelitian dengan uji Komolgorov-Smirnov. Uji Kruskall Wallis dan Pearson dilakukan dalam penelitian ini menggunakan program *software* SPSS 20.

HASIL PEMBAHASAN

Perbandingan Distribusi Nilai Kuantitas Relatif miRNA-21 pada Sampel Sel Eksfoliatif dengan Sampel Serum

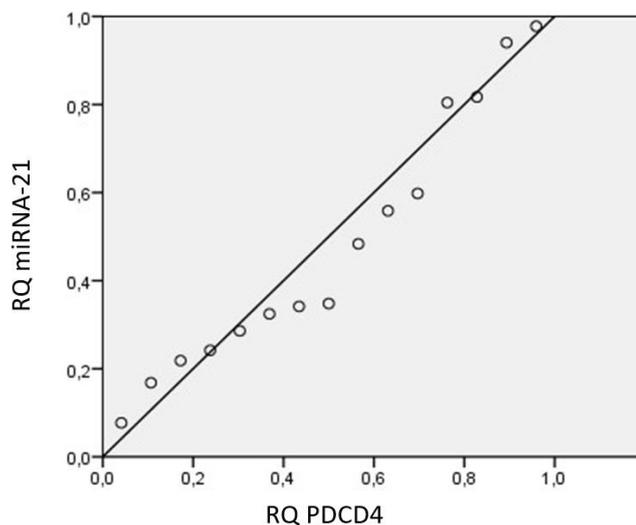
Penelitian ini melihat apakah terdapat kesamaan distribusi antara nilai kelipatan ekspresi yang didapatkan pada sampel dari serum dengan sel eksfoliatif serviks. Hal tersebut dapat diketahui dengan menggunakan uji T-Test menggunakan SPSS 20, pada kedua tipe sampel. Nilai signifikansi T-Test yang didapatkan adalah 0,594. Nilai tersebut lebih besar dari nilai alpha 0,05. Hal tersebut menandakan bahwa terdapat tidak ada perbedaan antara sampel dari serum dengan sampel dari sel eksfoliatif serviks.



Gambar 1. Perbandingan Distribusi Nilai Kuantitas Relatif miRNA-21 Sampel Sel Eksfoliatif dengan Sampel Serum dengan Tes T Independen

Hubungan Nilai Kuantitas Relative miRNA-21 dengan mRNA PDCD4 pada Sel Serviks Pasien Karsinoma Serviks

Pada penelitian ini ditemukan adanya hubungan yang signifikan antara miRNA-21 dengan PDCD4 sehingga hipotesis awal penelitian diterima, dimana terdapat hubungan yang signifikan antara miRNA-21 dengan mRNA PDCD4 dengan nilai $p < 0,05$ (0,029) dengan kekuatan korelasi kuat ($r = 0,563$).

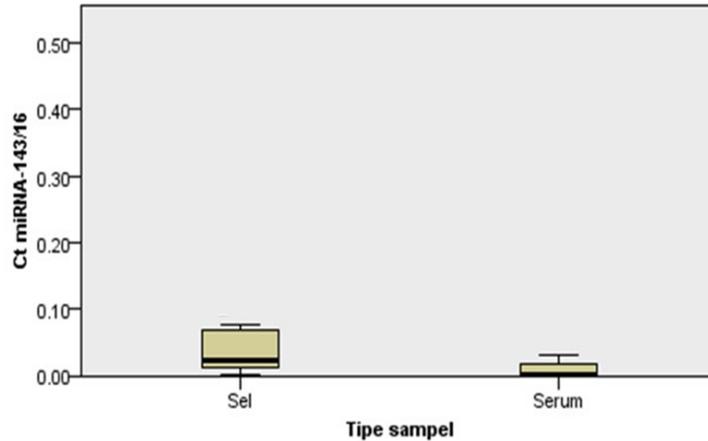


Gambar 2. Hubungan nilai ekspresi miRNA-21 dengan mRNA PDCD4

Perbandingan Distribusi Nilai Kelipatan Ekspresi miRNA-143 pada Sampel Serum dengan Sel Eksfoliatif

Pada penelitian ini, ingin dilihat apakah terdapat kesamaan distribusi antara nilai kelipatan ekspresi yang didapatkan pada sampel dari serum dengan sel eksfoliatif serviks. Hal tersebut dapat diketahui dengan menggunakan uji Kruskal Wallis menggunakan SPSS 20, pada kedua tipe sampel. Nilai signifikansi Kruskal Wallis yang didapatkan adalah 0,002. Nilai tersebut lebih kecil

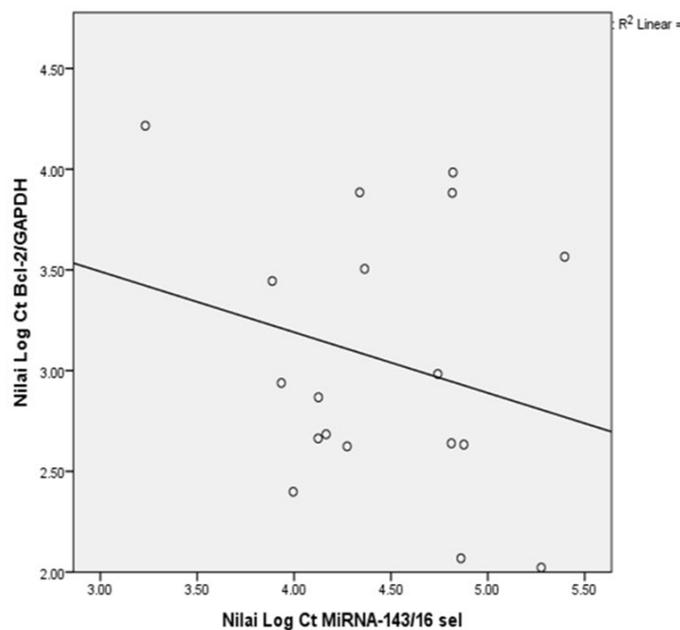
dari nilai alpha 0,05. Hal tersebut menandakan bahwa terdapat perbedaan antara sampel dari serum dengan sampel dari sel eksfoliatif serviks.



Gambar 3. Perbandingan Distribusi Nilai Kelipatan Ekspresi MiRNA-143 Sampel Serum dengan Sampel Sel Eksfoliatif

Hubungan Nilai Kelipatan Ekspresi miRNA-143 dengan Bcl-2 pada Sel Serviks Pasien Kanker Serviks

Penelitian ini ingin melihat apakah ada korelasi antara nilai kelipatan ekspresi dari miRNA-143 dengan Bcl-2. Uji Pearson dengan SPSS 20 dilakukan untuk mengetahui hal tersebut. Hasil yang didapatkan adalah nilai r -0,101 dan nilai signifikansi 0,689. Hal tersebut menunjukkan terdapat korelasi negatif antara tingkat ekspresi miRNA-143 dengan Bcl-2, namun nilai yang mendekati 0 menunjukkan hubungan yang lemah antara miRNA-143 dengan Bcl-2. Nilai signifikansi 0,685 menunjukkan tidak terdapat korelasi yang signifikan secara statistik, antara miRNA-143 dengan Bcl-2



Gambar 3. Hubungan Nilai Ekspresi miRNA-143 dengan Bcl-2

PEMBAHASAN

Tipe sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah serum dan sel eksfoliatif, yang dapat membuktikan apakah miRNA yang tersirkulasi di dalam serum dapat dideteksi dan memiliki kesamaan nilai dengan yang didapatkan pada sampel sel. Penelitian mengenai kemampuan profil serum miRNA sebagai marka untuk kanker serviks sebelumnya pernah dilakukan oleh Wang *et al.* (2014), yang melaporkan bahwa sebagian miRNA yang diteliti memiliki nilai yang berbeda sebelum dan sesudah operasi, yang diakibatkan proses deregulasi. Penelitian oleh Ma *et al.* (2014) mendukung penggunaan serum miRNA sebagai *biomarker*. Pada penelitian tersebut, didapatkan bahwa miRNA-205 baik pada serum maupun jaringan memiliki peningkatan ekspresi pada pasien kanker serviks. Pada sampel serum, didapatkan terjadi peningkatan 5,74 kali lebih tinggi miRNA-205 pada kasus kanker serviks dibandingkan normal, sedangkan pada sampel menggunakan sel tumor, didapatkan peningkatan >3 kali miRNA-205. Didapatkannya karakteristik peningkatan yang sama antara sampel serum dengan sel menunjukkan bahwa miRNA dari serum dapat menjadi potensial *biomarker* yang noninvasif untuk kanker serviks.

Analisis tingkat ekspresi gen dilakukan dengan menggunakan metode *Real Time-Polymerase Chain Reaction* (RT-qPCR). Banyak metode yang dapat digunakan untuk mengukur ekspresi miRNA, seperti *northern blot*, *flowsitometri*, *mikroarray*, serta RT-qPCR. Metode RT-qPCR lebih baik dibandingkan metode yang lain karena sensitifitas yang tinggi, spesifitas serta kemampuan untuk direproduksi kembali hasilnya. RT-qPCR juga tidak membutuhkan konsentrasi RNA yang banyak dan metode tersebut dapat mendeteksi hingga pada profil sel tunggal. Hal tersebut ideal pada pendeteksian miRNA terutama pada yang tersirkulasi karena konsentrasi miRNA lebih sedikit dibandingkan materi genetik lain (Ma *et al.*, 2014). Kesimpulan tersebut juga didukung dengan penelitian miRNA yang menggunakan metode RT-qPCR. Penelitian Tang *et al.* (2013) dalam pendeteksian miRNA-182 kanker serviks Weber *et al.* (2010) yang meneliti miRNA pada berbagai jenis sampel meyakinkan bahwa metode RT-qPCR merupakan metode tepat untuk penelitian ini.

Kelemahan yang dapat terjadi dalam pendeteksian miRNA dengan RT-qPCR adalah panjang primer miRNA yang umumnya hanya sepanjang 22 basa. Beberapa metode yang dapat mengatasi kelemahan tersebut adalah metode *stem-loop primer*, penambahan ekor poly(A), serta Universal RT mikroRNA. Metode *stem-loop* memiliki kekurangan yaitu peneliti tidak dapat mengontrol spesifitas reaksi melalui kurva leleh serta *probe* dapat berikatan dengan sekuens yang bukan target. Metode penambahan ekor poly(A) sangat bergantung pada spesifitas primer. Hal tersebutlah yang mendukung dipilihnya metode Universal RT mikroRNA yang dikembangkan Exiqon. Metode tersebut menggunakan *intercalating dye SYBR Green* yang dapat memberikan kontrol akan produk PCR yang tidak diinginkan dengan melihat kurva leleh yang dihasilkan. Metode ini juga menggunakan primer yang ditingkatkan dengan *Locked Nucleic Acid* (LNA) untuk meningkatkan temperatur pelelehan serta spesifisitas (Balcells & Cirera, 2011; Zhang *et al.*, 2014).

Analisa hubungan antara ekspresi miRNA-21 pada serum dan sel serviks dilakukan. Analisa dilakukan dengan menggunakan tes t bebas terhadap dua variable yang tidak berhubungan. Pada penelitian ini tidak ditemukan adanya perbedaan antara ekspresi miRNA-21 pada serum dan sel serviks pada sehingga hipotesis awal diterima dimana tidak didapatkan perbedaan miRNA-21 serum dan miRNA-21 jaringan dengan nilai $p > 0,05$ (0,594). Dari hal ini memungkinkan penggunaan sampel serum untuk identifikasi miRNA-21 pasien karsinoma serviks tipe skuamosa selain sel eksfoliatif serviks. Hal ini sesuai dengan Penelitian oleh Ma *et al.* (2014) yang mendukung penggunaan serum miRNA sebagai biomarker untuk karsinoma serviks.

Pada penelitian ini ditemukan adanya hubungan yang signifikan antara miRNA-21 pada sel eskfoliatif serviks dengan PDCD4 sehingga hipotesis awal penelitian diterima, dimana ada hubungan yang signifikan antara miRNA-21 pada sel eskfoliatif serviks dengan mRNA PDCD4

dengan nilai $p < 0,05$ (0,029) dengan kekuatan hubungan yang kuat ($r = -0,563$). Hubungan ini bersifat negatif yang artinya dimana bila miRNA-21 terjadi peningkatan, maka mRNA PDCD4 akan menurun. Pada penelitian lain didapatkan hasil yang sama yang mendukung hasil penelitian dimana PDCD4 menjadi satu-satunya mRNA yang mengalami disregulasi diantara 3 mRNA yang menjadi target miRNA-21 (Yao *et al.*, 2009). Berdasarkan penelitian tersebut, menggunakan sel HeLa, miRNA-21 diketahui menargetkan mRNA PDCD4 untuk tidak terekspresi sehingga sel HeLa yang merupakan sel kanker serviks, dapat terus tumbuh berkembang.

Analisis distribusi miRNA-143 pada sampel serum dengan sampel sel menunjukkan adanya perbedaan antara tingkat ekspresi pada sampel serum dengan sel. Perbedaan tersebut menunjukkan bahwa sampel serum tidak dapat merepresentasikan hasil sampel sel. Faktor peran miRNA-143 sebagai tumor *supresor* dapat menjadi salah satu penyebab perbedaan antara tingkat ekspresi dari miRNA yang tersirkulasi dengan miRNA pada lokasi kanker. MiRNA-143 yang tersirkulasi dapat terdistribusi oleh sel tetangga yang masih belum menjadi kanker untuk menghambat pertumbuhan sel-sel kanker. Tingkat ekspresi miRNA-143 pada sel-sel kanker dapat menurun akibat peran onkogen dalam pertumbuhan sel-sel kanker tersebut (Huang *et al.*, 2012).

Analisis perbandingan antara nilai kuantitas relatif ekspresi miRNA-143 dengan Bcl-2 menunjukkan korelasi negatif antara miRNA-143 dengan Bcl-2. Korelasi negatif antara miRNA-143 dengan Bcl-2 artinya adalah semakin tinggi nilai miRNA-143, maka nilai Bcl-2 akan semakin rendah. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Liu *et al.* (2012) yang menunjukkan bahwa keberadaan miRNA-143 dapat menurunkan ekspresi Bcl-2 serta penelitian Li *et al.* (2016) yang juga menunjukkan bahwa penurunan ekspresi Bcl-2 akibat miRNA-143 juga mempromosikan apoptosis melalui aktivasi kaspase 9. Nilai r yang mendekati 0 dan nilai signifikansi 0,685 menunjukkan bahwa korelasi tersebut tidak signifikan. Kekurangan tersebut dapat terjadi karena ekspresi Bcl-2 dapat dipengaruhi oleh miRNA lain, seperti miRNA-29 dan miRNA-181a (Xiong *et al.*, 2010; Chen *et al.*, 2010).

SIMPULAN

Hasil penelitian mengenai miRNA-21 menunjukkan sampel serum memiliki nilai ekspresi miRNA-21 yang tidak berbeda dengan nilai ekspresi miRNA-21 pada sel eksfoliatif serviks dan terdapat korelasi yang kuat antara ekspresi miRNA-21 yang meningkat dengan penurunan ekspresi dari mRNA PDCD4. Hasil tersebut berbeda pada miRNA-143 dimana sampel serum memiliki perbedaan tingkat ekspresi dengan sampel sel eksfoliatif, sehingga tingkat ekspresi pada sampel serum tidak dapat menggambarkan tingkat ekspresi pada sampel sel. Perbandingan tingkat ekspresi miRNA-143 dengan Bcl-2 juga tidak memberikan korelasi yang signifikan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dilakukan dengan bantuan hibah Rumah Sakit Kanker Dharmas 2015-2016. Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan dengan pihak-pihak yang terkait dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Appasani K. 2008. *MicroRNAs From Basic Science to Disease Biology*. Cambridge University Press: UK.

- Balcells I, Cirera S, Busk PK. 2011. Specific and sensitive quantitative RT-PCR of miRNAs with DNA primers. *BMC biotechnology* 11(1): 1–11.
- Chen G, Zhu W, Shi D, Lv L, Zhang C, Liu P, Hu W. 2010. MicroRNA-181a sensitizes human malignant glioma U87MG cells to radiation by targeting Bcl-2. *Oncology reports* 23(4): 997–1003.
- Chuang JC, Jones P. 2007. Epigenetic and MicroRNAs. *International Pediatric Research Foundation* 61(5): 2.
- Exiqon. 2015. *Protocol for MicroRNA PCR Profiling using MicroRNA LNATM PCR Primer Sets with the QX200TM Droplet DigitalTM PCR system*. Exiqon: North America.
- Forouzanfar MH, Foreman KJ, Delossantos AM, Lozano R, Lopez AD, Murray CJ, Naghavi M. 2011. Breast and cervical cancer in 187 countries between 1980 and 2010: a systematic analysis. *The lancet* 378(9801): 1461–1484.
- Godoy AE, Bazzo KO, De Moura LB, Serafini EP. 2014. Expression analysis of p53, Ki-67 and bcl-2 in pre-malignant lesions of the cervix. *Open Journal of Obstetrics and Gynecology*, 2014.
- Huang L, Lin JX, Yu YH, Zhang MY, Wang HY, Zheng M. 2012. Downregulation of six microRNAs is associated with advanced stage, lymph node metastasis and poor prognosis in small cell carcinoma of the cervix. *PloS one* 7(3): 1–9.
- Li WH, Wu HJ, Li YX, Pan HG, Meng T, Wang X. 2016. MicroRNA-143 promotes apoptosis of osteosarcoma cells by caspase-3 activation via targeting Bcl-2. *Biomedicine & pharmacotherapy* 80: 8–15.
- Liu L, Yu X, Guo X, Tian Z, Su M, Long Y, Huang C, Zhou F, Liu M, Wu X, Wang X. 2012. miR-143 is downregulated in cervical cancer and promotes apoptosis and inhibits tumor formation by targeting Bcl-2. *Molecular medicine reports* 5(3): 753–760.
- Ma Q, Wan G, Wang S, Yang W, Zhang J, Yao X. 2014. Serum microRNA-205 as a novel biomarker for cervical cancer patients. *Cancer cell international* 14(1): 1–7.
- Protrka Z, Arsenijevic S, Dimitrijevic A, Mitrovic S, Stankovic V, Milosavljevic M, Kastratovic T, Djuric J. 2011. Co-overexpression of bcl-2 and c-myc in uterine cervix carcinomas and premalignant lesions. *European journal of histochemistry* 55(1).
- Shukla S, Dass J, Pujani M. 2014. p53 and bcl2 expression in malignant and premalignant lesions of uterine cervix and their correlation with human papilloma virus 16 and 18. *South Asian Journal of Cancer* 3(01): 48–053.
- Sinuraya EZ. 2012. Registrasi kanker berbasis rumah sakit di RSKD 2003-2007. RS Kanker Dharmais 2012. 104 hlm.
- Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER). 2010. *Cancer Statistics Review 1975-2010: US Surveillance Epidemiology and End Result*. USA.
- Tang T, Wong HK, Gu W, Yu MY, To KF, Wang CC, Wong YF, Cheung TH, Chung TK, Choy KW. 2013. MicroRNA-182 plays an onco-miRNA role in cervical cancer. *Gynecologic oncology* 129(1): 199–208.
- Wang WT, Zhao YN, Yan JX, Weng MY, Wang Y, Chen YQ, Hong SJ. 2014. Differentially expressed microRNAs in the serum of cervical squamous cell carcinoma patients before and after surgery. *Journal of hematology & oncology* 7(1): 1–10.

- Weber JA, Baxter DH, Zhang S, Huang DY, How Huang K, Jen Lee M, Galas DJ, Wang K. 2010. The microRNA spectrum in 12 body fluids. *Clinical chemistry* 56(11): 1733–1741.
- Xiong Y, Fang JH, Yun JP, Yang J, Zhang Y, Jia WH, Zhuang SM. 2010. Effects of microRNA-29 on apoptosis, tumorigenicity, and prognosis of hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 51(3): 836–845.
- Xu J, Li Y, Wang F, Wang X, Cheng B, Ye F, Xie X, Zhou C, Lu W. 2013. Suppressed miR-424 expression via upregulation of target gene Chk1 contributes to the progression of cervical cancer. *Oncogene* 32(8): 976–987.
- Yao Q, Xu H, Zhang QQ, Zhou H, Qu LH. 2009. MicroRNA-21 promotes cell proliferation and down-regulates the expression of programmed cell death 4 (PDCD4) in HeLa cervical carcinoma cells. *Biochemical and biophysical research communications* 388(3): 539–542.
- Zhang ZQ, Meng H, Wang N, Liang LN, Liu LN, Lu SM, Luan Y. 2014. Serum microRNA 143 and microRNA 215 as potential biomarkers for the diagnosis of chronic hepatitis and hepatocellular carcinoma. *Diagnostic pathology* 9(1): 1–7.