

## PENGARUH EKSTRAK DAUN SIRSAK TERHADAP EKSPRESI GEN BCL2 SEL KANKER PAYUDARA T47D

Dea Sandra Prastyscilya <sup>1</sup>, Dessy Arisanty <sup>2</sup>, Zelly Dia Rofinda <sup>3</sup><sup>1</sup>. Profesi dokter Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang, Indonesia<sup>2</sup>. Bagian Pendidikan Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang, Indonesia<sup>3</sup>. Bagian Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang, Indonesia

## SUBMISSION TRACK

Submitted : 23 Maret 2025  
Accepted : 26 Maret 2025  
Published : 27 Maret 2025

## KEYWORDS

soursop leaf extract, BCL2 gene expression, cell line T47D, real time PCR polymerase chain reaction.

ekstrak daun sirsak, ekspresi gen BCL2, cell line T47D, real time PCR polymerase chain reaction

## CORRESPONDENCE

Phone: +6281363787861

E-mail: [desrantius@gmail.com](mailto:desrantius@gmail.com)

## A B S T R A C T

**Background:** Cancer is a disease characterized by the growth of abnormal cells beyond normal limits which can then invade different parts of the body and/or spread to other organs. One type of cancer, namely cancer ranks first in Indonesia compared to other types of cancer. Soursop leaves contain acetogenin, which has a cytotoxic effect on T47D breast cancer cells. **Objective:** The purpose of this study was to determine the effect of soursop leaf extract on the expression of the BCL2 gene in T47D cancer cells in vitro. **Methods:** This research is an experimental study, using the relative quantification method of real time PCR. Soursop leaf ethanol extract was incubated with T47D breast cancer cells which were divided into 2 sample groups, namely the treatment group and the control group. The treatment group will be given a test solution of soursop leaf ethanol extract with a concentration according to  $IC_{50} = 94.26$  g/ml. **Results:** The results showed that the treated breast cancer cells expressed the BCL2 gene that was 1.85 times higher than the control group cells. The results showed a significant difference between the BCL2 gene expression of T47D breast cancer cells in the treatment and control groups with  $p = 0.001$  ( $p < 0.005$ ). **Conclusion:** Expression of the BCL2 gene in T47D breast cancer cells treated with soursop leaf extract (*Annona Muricata* Linn) was higher than the control.

## A B S T R A K

**Latar Belakang:** Kanker adalah suatu penyakit yang ditandai dengan pertumbuhan sel abnormal diluar batas normal yang kemudian dapat menyerang bagian tubuh yang berdampingan dan / atau menyebar ke organ lain. Salah satu jenis kanker yaitu kanker payudara menempati urutan pertama terbanyak di Indonesia dibandingkan jenis kanker lainnya. Daun sirsak memiliki kandungan *acetogenin*, yang memiliki efek sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D. **Objektif:** Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun sirsak terhadap ekspresi gen BCL2 sel kanker T47D secara *in vitro*. **Metode:** Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental, menggunakan metode relative kuantifikasi *real time* PCR. Ekstrak ethanol daun sirsak diinkubasi bersama sel kanker payudara T47D yang dibagi menjadi 2 kelompok sampel, yaitu kelompok perlakuan dan kelompok kontrol. Kelompok perlakuan akan diberi larutan uji ekstrak ethanol daun sirsak dengan konsentrasi sesuai  $IC_{50} = 94,26$  µg/ml. **Hasil:** Hasil penelitian menunjukkan sel kanker payudara yang diberi perlakuan mengekspresikan gen BCL2 yaitu 1,85 kali lipat lebih tinggi dibandingkan dengan sel kelompok kontrol. Hasil penelitian didapatkan perbedaan yang bermakna antara ekspresi gen BCL2 sel kanker payudara T47D kelompok perlakuan dan kontrol dengan nilai  $p = 0,001$  ( $p < 0,005$ ). **Kesimpulan:** Ekspresi gen BCL2 pada sel kanker payudara T47D yang diberi perlakuan ekstrak daun sirsak (*Annona Muricata* Linn) lebih tinggi dari pada kontrol.

## Pendahuluan

Kanker adalah suatu penyakit yang ditandai dengan pertumbuhan sel abnormal yang kemudian dapat menyerang bagian tubuh dan dapat menyebar ke organ lain.<sup>1</sup> Setiap tahunnya, di dunia angka kematian tertinggi disebabkan oleh kanker. Pada tahun 2018 kanker menjadi penyebab 9,6 juta kematian di dunia.<sup>2</sup> Berdasarkan data dari *International Agency for Research on Cancer* (IARC) pada tahun 2012, terdapat 14.067.894 kasus kanker baru dan 8.201.575 kematian akibat kanker. Jumlah penderita kanker akan terus bertambah setiap tahunnya. Kanker payudara juga merupakan penyebab utama kematian akibat kanker pada wanita (15,0%).<sup>2</sup> Angka kejadian kanker payudara di Indonesia diperkirakan 12/100.000 pada wanita dengan mortalitas yang tinggi.<sup>3</sup>

Penanganan kanker payudara pada umumnya masih bergantung pada kemoterapi, operasi, radioterapi, imunoterapi, dan terapi fotodinamik.<sup>4</sup> Pengobatan yang sering digunakan saat ini adalah pembedahan untuk pengangkatan jaringan kanker. Pengangkatan ini dilakukan apabila kanker payudara berada di bawah stadium IIIA, sedangkan untuk stadium IIIB dan IV diberikan tatalaksana paliatif. Terapi pembedahan memiliki kelemahan yaitu saat pengangkatan sel kanker, dimana sel dapat tertinggal dan dapat tumbuh menjadi jaringan kanker baru. Selain itu penggunaan radioterapi dan kemoterapi memiliki manfaat membunuh sel kanker, tetapi juga bisa membunuh sel-sel yang normal.<sup>5</sup> Oleh karena itu penting untuk dilakukan penelitian terkait pengobatan herbal terhadap penyakit kanker payudara. Peneliti baru-baru ini telah berfokus pada perkembangan pengobatan kanker dengan menggunakan ekstrak tumbuhan alami yang mengandung senyawa bioaktif. Namun, hal ini memerlukan berbagai tahapan yang sangat panjang untuk dijadikan sebagai produk farmasi dalam terapi penyakit kanker. Pemanfaatan tumbuhan obat menjadi salah satu alternatif yang bisa digunakan. Selain tanaman obat ini mudah didapat, biaya yang diperlukan juga terjangkau.<sup>4</sup>

Salah satu tanaman obat yang dapat digunakan adalah tanaman sirsak. Tanaman sirsak dipercaya masyarakat berfungsi sebagai antikanker, terutama pada bagian daunnya yang dapat di buat menjadi ekstrak daun sirsak. Sirsak (*Annona muricata* Linn) merupakan tanaman buah yang berasal dari family acetogenin yang terdiri sekitar 130 genus dan 2.300 spesies. Manfaat lain selain antikanker ternyata sirsak berfungsi sebagai antikonvulsan, antipiretik, antiparasit, antimalaria, antidiabetes, antidiare, antirematik, antidisentri, dan analgetik. Daun sirsak bermanfaat untuk menghambat sel kanker dengan menginduksi apoptosis.<sup>6</sup>

Daun sirsak memiliki kandungan senyawa acetogenin yang dapat digunakan sebagai antikanker, dengan cara menghambat Adenonensia trifosfat (ATP) yang berfungsi sebagai pemberi energi pada sel kanker.<sup>7</sup> Penggunaan ekstrak daun sirsak sangat efektif, aman, dan mudah didapatkan.<sup>8</sup> Hal ini dijelaskan pada metode yang didapatkan nilai IC50 pada konsentrasi 94,26 µg/ml dengan inkubasi 72 jam.<sup>9</sup> Acetogenin memiliki pengaruh terhadap induksi proses apoptosis melalui peningkatan dari pelepasan sitokrom-c dari mitokondria menuju sitosol. Penurunan nilai konsentrasi tersebut dapat mempengaruhi ekspresi gen BCL2 (anti-apoptosis), peningkatan kadar Bax (pro-apoptosis), dan mengaktifasi exequioner caspase-9 untuk melakukan apoptosis.<sup>10</sup>

Peran dalam apoptosis harus seimbang dimana tidak boleh berlebihan dan tidak boleh terlalu sedikit. Apabila terlalu berlebihan akan menyebabkan kekacauan sel, dan apabila terlalu sedikit akan menyebabkan proliferasi sel yang tidak terkontrol (kanker).<sup>11</sup> Terdapat tiga ciri pada biokimia apoptosis yaitu aktivasi caspase, pecahnya DNA dan protein, dan perubahan pada membran, sehingga dapat dikenali oleh sel-sel fagosit. Aktivasi atau pemulihan apoptosis muncul sebagai strategi untuk pengobatan kanker dan penyakit lainnya.<sup>12</sup>

Terdapat dua jalur mekanisme apoptosis yaitu jalur intrinsik (jalur mitokondria) dan ekstrinsik (jalur sitoplasma). Jalur ekstrinsik dipicu oleh *fas death receptor* sedangkan pada jalur intrinsik melalui mekanisme menstimulasi sitokrom- c yang akan mengaktvasi kematian

sel.<sup>13</sup> Pada jalur instrinsik diatur oleh sekelompok protein yaitu *BCL family*. Anti-apoptosis dikelompokkan menjadi BCL2, BCL-xL sedangkan untuk pro-apoptosis dikelompokkan menjadi Bax, Bid, dan Bad. Mekanisme kerja utama dari BCL2 yaitu sebagai anti-apoptosis. BCL2 akan menghambat apoptosis dan dapat menghalangi pelepasan sitokrom-c dari mitokondria.<sup>14</sup>

Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya, diketahui ekstrak daun sirsak dapat menurunkan persentase 50% *viabilitas cell*. Hasil tersebut menunjukkan ekstrak daun sirsak memiliki efek sitotoksik dalam menghambat proliferasi *cell line* kanker payudara T47D. Ekstrak daun sirsak memiliki kandungan senyawa bioaktif acetogenin yang menghambat kompleks 1 mitokondria. Hal ini menyebabkan penurunan produksi ATP dan menginduksi apoptosis. Penelitian tersebut masih memerlukan pengujian lebih lanjut untuk mengembangkan potensi dari ekstrak daun sirsak. Saat ini belum ada penelitian yang bertujuan untuk melihat pengaruh ekstrak daun sirsak yang berkaitan dengan gen yang terlibat pada proses apoptosis, salah satunya adalah pada ekspresi gen BCL2 sel kanker payudara T47D dengan menggunakan *real time PCR*.<sup>9</sup>

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan diatas, peneliti tertarik melakukan penelitian untuk mengetahui ekspresi gen BCL2 terhadap kematian sel kanker payudara T47D akibat pemberian ekstrak daun sirsak menggunakan metode *PCR real time*.

## Metode

Penelitian dilakukan dengan menggunakan kultur sel kanker payudara T47D yang diberi perlakuan ekstrak daun sirsak, dengan kadar nya adalah nilai  $IC_{50}$ . Setelah itu dilanjutkan dengan pemeriksaan pada ekspresi gen, yaitu pada gen BCL2 dengan menggunakan metode *real time polymerase chain reaction (PCR)*.

Populasi dan sampel dalam penelitian ini adalah sel T47D yang telah di kultur di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Andalas, yang diteliti pada ekspresi gen BCL2 dengan menggunakan PCR di Labor Biomedik. Pada penelitian ini terdapat 2 kelompok yang akan diteliti yaitu, yang diberi zat uji (perlakuan) dan yang tidak diberi perlakuan (kontrol).

Data nilai  $C_q$  yang di dapatkan dari *real time PCR* secara online dari setiap siklusnya. Instrument PCR akan mendapatkan data ini sebagai kurva amplifikasi. Setelah dilakukan pendataan dan didapatkan hasil reaksi, lalu akan diidentifikasi fase eksponensial dengan menggunakan pemeriksaan catatan yang telah tersedia pada instrumen. Setelah itu nilai  $C_q$  dari produk *real time PCR* akan diujikan dengan *man withney* untuk melihat level dari ekspresi gen BCL2 yang telah diberikan zat uji dan yang tidak diberikan zat uji. Jika nilai  $p < 0,05$  artinya terdapat perbedaan yang bermakna. Nilai  $C_q$  gen BCL2 juga dianalisis dengan menggunakan rumus  $2^{-\Delta\Delta CT}$  yaitu dengan cara dinormalisasikan dengan nilai  $C_q$  gen GAPDH sebagai gen referensi.

Nomor izin kaji etik pada penelitian ini adalah No: 045/KEP/FK/2019, dan institusi yang mengeluarkan no izin kaji etik penelitian ini adalah Fakultas Kedokteran Universitas Andalas.

## Hasil

Pembacaan nilai  $C_q$  dari gen BCL2 dan GAPDH dilakukan dengan menggunakan *Thermal Cycler RT-PCR* di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Andalas. Hasil yang didapatkan pada setiap kelompok penelitian berupa nilai *Cycle Quantification* dari masing-masing sampel yang ada pada setiap kelompok penelitian. Perbandingan rerata nilai  $C_q$  pada setiap kelompok disajikan dalam tabel 1.

Tabel 1. Data Kuantifikasi gen BCL2 dan GAPDH pada siklus fluoresen yang terbaca (Cq/Cycle quantification) dari hasil Real Time PCR

Sampel	Cq BCL2		Cq GAPDH	
	Perlakuan	Kontrol	Perlakuan	Kontrol
<b>1</b>	33,20	31,15	34,62	29,94
<b>2</b>	33,15	31,89	32,27	29,94
<b>3</b>	33,46	29,13	32,04	27,65
<b>4</b>	33,73	29,13	34,49	27,59
<b>5</b>	33,02	31,49	32,22	30,06
<b>6</b>	33,72	31,66	32,06	30,18
<b>7</b>	33,91	29,17	33,00	28,16
<b>8</b>	34,23	29,22	33,59	28,33
<b>Rata-rata</b>	33,55	30,35	33,03	28,98

Data kuantifikasi yang diperoleh pada Tabel 1 kemudian diuji menggunakan uji *Mann-Whitney* untuk melihat apakah ada perbedaan yang bermakna atau tidak. Hasil uji rerata Nilai Cq gen BCL2 pada sel kanker payudara T47D disajikan dalam tabel 2.

Table 2 Data Uji Man Whitney

Variabel	Nilai Cq			
	n	Mean	SD	Nilai P <sup>*</sup> )
Kelompok Perlakuan	8	33,55	0,41	0,001
Kelompok kontrol	8	30,35	1,29	

\*Berdasarkan Uji Man Whitney

Berdasarkan hasil pada tabel 2 didapatkan nilai  $p < 0,05$ . Artinya terdapat perbedaan yang bermakna antara nilai Cq gen BCL2 sel kanker payudara T47D pada kelompok perlakuan dan kontrol. Hal ini menandakan bahwa pemberian larutan uji ekstrak ethanol daun sirsak terhadap sel kanker payudara T47D tidak mempengaruhi ekspresi gen BCL2 dari sel tersebut pada kedua kelompok perlakuan.

Rerata gen BCL2 dan gen GAPDH sel kanker payudara T47D pada kedua kelompok penelitian kemudian dianalisis dengan menggunakan rumus livak. Fungsi nilai Cq gen GAPDH yaitu menormalisasi data dari nilai Cq gen BCL2. Gen GAPDH bertindak sebagai gen referensi/ *housekeeping gene*.

Adapun untuk Analisa nilai ekspresi gen BCL2 dari *real time* PCR menggunakan *relative quantification*, yaitu menggunakan rumus livak.

Pertama, nilai Cq gen BCL2 sebagai gen target dinormalisasi dengan nilai Cq gen GAPDH sebagai gen referensi untuk sampel perlakuan dan sampel kontrol :

$$\begin{aligned} 2\Delta Cq_{(\text{perlakuan})} &= Cq \text{ BCL2} - Cq \text{ GAPDH} \\ &= 33,55 - 33,03 \\ &= 0,51 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \Delta Cq_{(\text{kontrol})} &= Cq \text{ BCL2} - Cq \text{ GAPDH} \\ &= 30,35 - 28,98 \\ &= 1,37 \end{aligned}$$

Kedua, nilai  $\Delta Cq$  sampel perlakuan dinormalisasi dengan nilai  $\Delta Cq$  sampel kontrol:

$$\Delta\Delta Cq = \Delta Cq_{(\text{perlakuan})} - \Delta Cq_{(\text{kontrol})}$$

$$\Delta\Delta Cq = 0,51 - 1,37 = -0,85$$

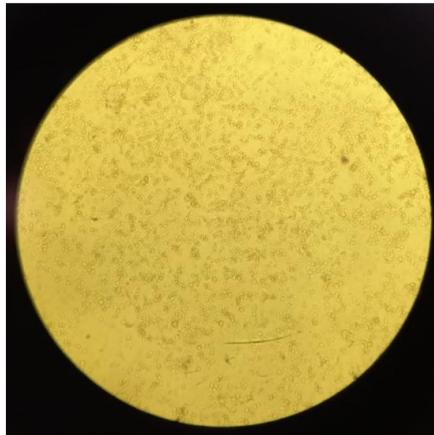
Rasio ekspresi adalah:

$$2^{-\Delta\Delta CT} = \text{Rasio ekspresi yang dinormalisasi}$$

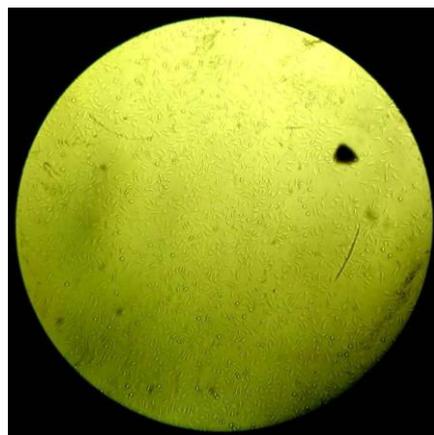
$$2^{-\Delta\Delta CT} = 2^{-(-0,9)} = 1,85$$

Sel kanker payudara T47D yang diberi perlakuan mengekspresikan gen BCL2 pada tingkat 1,85 kali lebih tinggi dari sel kelompok kontrol.

Adapun secara mikroskopis antara sel kanker payudara T47D kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol menunjukkan adanya perbedaan jika dilihat dengan menggunakan mikroskop *inverted*. Sel kanker payudara T47D yang diberikan larutan uji dan sel kanker payudara T47D yang tidak diberikan larutan uji secara berturut-turut disajikan pada gambar 1 dan 2. Sel kanker payudara T47D yang diberikan larutan uji menunjukkan adanya tanda-tanda apoptosis yaitu bentuk sel sudah tidak utuh dan berkurangnya kepadatan sel. Sedangkan sel kanker payudara T47D yang tidak diberikan larutan uji menunjukkan gambaran sel tampak utuh, terdapat adhesi antara satu sel dengan yang lainnya, dan sel tumbuh dengan kepadatan yang tinggi.



Gambar 1. Sel T47D yang diberikan Perlakuan, Perbesaran 10x



Gambar 2. Sel T47D yang Tidak diberikan Perlakuan, Perbesaran 10x

### Pembahasan

Berdasarkan dari hasil penelitian ini, mendapatkan hasil yang berbanding terbalik dari teori atau penelitian pendahulu yang mana dilakukan oleh Wiwi dkk, dimana dengan adanya penurunan viabilitas sel kanker payudara T47D setelah diberi perlakuan ekstrak ethanol daun sirsak yang menandakan 50% populasi sel kanker mengalami kematian sel karena efek sitotoksik dari ekstrak.

Ekstrak daun sirsak memiliki kandungan *acetogenin*. *Acetogenin* adalah senyawa yang memiliki potensi sitotoksik yang mana memiliki inhibitor kuat dari kompleks 1 mitokondria atau NADH *dehydrogenase* yang dapat menurunkan produksi ATP yang dapat menyebabkan kematian pada sel kanker. Pada inhibisi ini dapat memicu adanya aktivasi pada jalur apoptosis dan pengaktifan gen p53 yang dapat menghentikan siklus dari sel yang akan mencegah proliferasi yang tidak terkendali. Implikasinya, dalam ekstrak ethanol daun sirsak yang memiliki kandungan *acetogenin* berpotensi dalam menurunkan ATP dalam kematian sel dan dapat memicu pengaktifan gen p53 yang banyak menarik untuk diteliti untuk mengetahui perannya dalam kasus kanker.<sup>15</sup>

Protein p53 juga diketahui dapat menekan ekspresi pada anti-apoptosis seperti gen BCL2. Sel yang kekurangan BCL2, terjadi overekspresi gen BCL2 yang mencegah aktivasi *caspase 3* dipengaruhi pada sel normal. Beberapa kasus kanker telah terjadi mutasi gen, overekspresi protein anti-apoptosis seperti BCL2, dan penurunan pro-apoptosis seperti Bax. Bax berfungsi sebagai anti-kanker dengan target kelompok BCL2 apabila senyawanya dapat mempengaruhi ekspresi protein baik pro-apoptosis maupun anti-apoptosis. Pengaruh senyawa terhadap ekspresi protein pro-apoptosis (Bax, Noxa, PUMA) dapat bergantung ataupun tidak bergantung pada p53. Penelitian dari Yi *et al* yang diperoleh dari biji kedelai tersebut dapat menginduksi apoptosis pada kultur sel kanker payudara, yakni dengan cara meningkatkan ekspresi pada gen Bax dan pada induksi ini diketahui tanpa diinduksi oleh gen p53.<sup>16</sup>

Protein Bax mengendalikan kematian sel dengan gangguan mitokondria dan selanjutnya pelepasan sitokrom c yang dianggap sebagai target pada gen p53. BCL2 tampak menjadi target p53 dalam mengalami *up-regulation* pada sejumlah sistem apoptosis.<sup>17</sup> P53 merupakan gen reseptor tumor yang penting dalam pengaturan apoptosis. P53 menjadi aktivator dalam transkripsi yang meregulasi ekspresi beberapa protein pro-apoptosis. Aktivasi ini dapat terjadi setelah adanya stimulasi kemoterapi, radiasi atau stres. Ekspresi Bax yang rendah dalam sel tumor yang kehilangan fungsi gen p53. Terdapat beberapa sel yang mengalami kenaikan ekspresi gen Bax tanpa adanya pengaruh p53.<sup>17</sup> Sebagian besar Bax akan mengalami translokasi ke mitokondria dan membentuk saluran membran mitokondria. Oleh karena itu, perlu untuk dilakukan penelitian terhadap ekspresi gen Bax agar mendapatkan hasil yang bisa dibandingkan dengan ekspresi gen BCL2 sel kanker payudara T47D.

Protein BCL2 merupakan protein yang berperan penting pada regulasi apoptosis atau kematian sel yang terprogram. Keluarga protein BCL2 dibagi menjadi tiga kelompok, yaitu anti-apoptosis (BCL2, Bcl-x, Bcl-W, Mcl, Bcl-b, dan AL), pro-apoptosis (Bax dan Bak), dan pro-apoptosis BH3 (Bad, Bik, Bid, Hrk, Bim, Noxa, dan Puma). Apoptosis merupakan kematian sel yang terprogram dimana memiliki peran penting dalam menjaga homeostasis perkembangan sel pada organisme multiseluler. Terdapat dua jalur mekanisme dalam proses terjadinya apoptosis, yaitu jalur *death receptors* pada permukaan sel (jalur ekstrinsik) dan jalur mitokondria (jalur intrinsik). Proses apoptosis pada jalur ekstrinsik dapat melalui jalur *death receptors* seperti *tumour- necrosis factor* (TNF), Fas, dan TRAIL-R1. Jalur intrinsik diinisiasi melalui mitokondria yang kematiannya diregulasi oleh kelompok BCL2. Aktivasi pada jalur intrinsik dapat menyebabkan pengeluaran sitokrom c ke sitosol dan dilanjutkan dengan pengikatan *Apoptotic Protease Activation Factor-1* (APAF1) untuk membentuk apoptosom.<sup>16</sup>

Apoptosom adalah struktur protein yang terbentuk dalam proses apoptosis. Apoptosom akan mengaktifkan *pro-caspase-9* menjadi *caspase-9*. Kematian lewat jalur ini dapat dihambat oleh protein anti-apoptosis, yaitu BCL2 dan Bax-X<sub>L</sub>.<sup>16</sup> BCL2 menjadi salah satu kunci utama dalam proses apoptosis, yaitu terjadinya aktivasi *caspase* (*caspase cascade*). Dua protein anti-apoptosis yang mengatur apoptosis adalah BCL2 dan Bcl-x. Protein ini normalnya berada di membran mitokondria dan sitoplasma. Gen BCL2 atau Bcl-x akan hilang pada membran mitokondria apabila sel kekurangan sinyal atau terkena stres untuk bertahan hidup. Gen ini

kemudian akan digantikan dengan protein pro-apoptosis yaitu Bax, Bak, dan Bim. Penurunan kadar BCL2 atau Bcl-x menyebabkan meningkatnya permeabilitas membran mitokondria sehingga protein yang dapat mengaktifkan *caspase* keluar menuju sitoplasma. Selain dapat meningkatkan ekspresi Bak, ekstrak ethanol daun sirsak mampu meningkatkan ekspresi p53. Gen p53 dan Bax merupakan gen yang berperan dalam proses apoptosis pada kanker. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mendalam terutama pada pengaruhnya terhadap ekspresi Bax pada kanker payudara.<sup>16</sup>

Suatu penelitian menunjukkan ekspresi BCL2 yang tinggi dapat memberikan prognosis yang buruk, namun beberapa penelitian menunjukkan BCL2 adalah suatu prognosis baik pada kelangsungan hidup. Ekspresi yang berlebih pada BCL2 diketahui dapat menghambat aktivitas pro-apoptosis dari Bax. Aktivasi pro-apoptosis dapat terjadi dengan jalan membentuk homodimer diantara pro apoptosis itu sendiri. BCL2 membentuk kompleks heterodimer dengan anggota proapoptosis gen Bax, maka dapat menetralkan efek apoptotiknya<sup>18</sup>

Penelitian lain dari Suprpti dkk, menyebutkan rasio pada BCL2 (anti-apoptosis) dan Bax (pro-apoptosis) merupakan suatu faktor penentu dalam kerentanan sel terhadap apoptosis. Rasio BCL2 penting untuk menentukan kecenderungan sel dalam menjalani apoptosis sehingga peningkatan pada rasio dapat memblokir apoptosis yang diperantarai mitokondria dengan mencegah pelepasan sitokrom c yang dapat menghambat *caspase* 9 dan akhirnya mengaktifasi *caspase* 3. Apoptosis juga ditransduksi oleh *death receptor* yang berinteraksi dengan ligan kognitif mereka sehingga mencetuskan kaskade yang akhirnya mengakibatkan aktivasi *caspase*. Dengan demikian, rasio BCL2/Bax menjadi penting untuk menentukan sel dalam menjalani apoptosis dan perlu penelitian lebih lanjut.<sup>17</sup>

Penelitian yang dilakukan oleh Poeta dan kawan-kawan dimana disebutkan kadar rasio Bax/BCL2 yang rendah berkorelasi dengan adanya risiko pemeriksaan sel kromosom yang buruk dimana hasil yang didapatkan pada tingginya rasio Bax/BCL2 ( $p = 0,001$ ), menghasilkan prognosis yang baik pada pemeriksaan sel kromosom yang normal.<sup>19</sup>

Selain itu menurut Moghadamtousi dan kawan-kawan, mekanisme *acetogenin* dalam menginduksi apoptosis adalah dengan mempengaruhi permeabilitas membrane mitokondria sehingga dapat mengakibatkan sitokrom-c dari mitokondria akan mengalami peningkatan translasi ke sitosol untuk mengaktifkan *caspase* 9 pada proses apoptosis. Protein seperti Bax bersifat pro-apoptosis juga mengalami peningkatan dikarenakan pelepasan sitokrom-c ke sitosol melalui dimerisasi dan translokasi ke membrane mitokondria bagian luar, BCL2 yang bersifat anti-apoptosis yang menekan translokasi sitokrom-c akan mengalami penurunan regulasi. Keluarnya sitokrom-c dari mitokondria, peningkatan Bax, dan regulasi dari protein anti-apoptosis yaitu BCL2 yang mengalami penurunan akan menginduksi apoptosis.<sup>20</sup> BCL2 mempunyai reaksi terhadap keganasan, meskipun tanpa adanya translokasi kromosom yang mengakibatkan perubahan pada gen BCL2.<sup>21</sup> Terdapat 2 agen penting dalam keluarga BCL2, yaitu MOM dan protein BH3 yang berfungsi dalam mengatur pengaktifan Bax dan Bak.

*Mitochondrial outer membrane* (MOM) adalah suatu membran mitokondria yang berperan penting dalam komitmen untuk apoptosis dengan cara mengatur tingkat permeabilisasi. Protein pro-apoptosis selanjutnya dibagi lagi secara fungsional menjadi protein yang oligomer dan permeabilisasi MOM, seperti Bax dan Bak, atau yang mempromosikan apoptosis baik melalui pengaktifan Bax atau Bak atau penghambatan protein anti-apoptosis, seperti tBid, Bim, Bad, dan Noxa.<sup>21</sup> Bax merupakan suatu protein penting dimana memiliki peran pada proses apoptosis dan termasuk dalam *family* dari BCL2.<sup>21</sup>

Agen kedua yaitu Protein BH3 (*interaction domain death agonist*) adalah suatu anggota apoptosis dari keluarga BCL2 yang memiliki afinitas tinggi untuk mengikat dan mengaktifkan Bax dan Bak yang disebut sebagai "aktivator," sedangkan yang hanya mengikat protein anti-apoptosis disebut "*sensitizer*". Protein aktivator BH3 berinteraksi langsung dengan mengaktifkan Bax dan Bak untuk mempromosikan MOMP (*Mitochondrial Outer Membran*

*Permeabilization*). Pelepasan protein aktivator BH3 berfungsi untuk mempromosikan MOMP melalui aktivasi Bax dan Bak. Oleh karena itu, agar sel mengalami apoptosis, kombinasi protein BH3 yang benar harus bersaing untuk mengikat protein anti-apoptosis yang berbeda untuk menginduksi Bax, Bak, dan MOMP.<sup>21</sup>

Berdasarkan hasil penelitian, ekstrak etanol daun sirsak diketahui dapat memicu terjadinya apoptosis dimana hal ini terlihat pada gambaran sel perlakuan dibawah mikroskop *inverted* dengan perbesaran 10 kali terlihat gambaran sel T47D yang tidak diberi zat uji masih tampak utuh, sel tumbuh dengan keadaan yang tinggi, dan terdapat adhesi antara satu sel dengan sel lainnya. (Lampiran 6)

Berdasarkan teori-teori penelitian dan hasil dari penelitian ini menunjukkan tidak adanya hubungan ekstrak daun sirsak terhadap ekspresi gen BCL2 sel kanker payudara T47D. Diharapkan dari penelitian ini dapat dikembangkan lagi mengenai perhitungan rasio gen Bax atau pada gen lainnya dan juga dapat dikembangkan lagi penelitian mengenai pengobatan kanker yang bersumber dari ekstrak daun sirsak dengan cara pengkajian lebih lanjut, baik itu studi *in vitro* maupun *in vivo* diwaktu yang akan datang

## Simpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan, didapatkan kesimpulan bahwa tidak terjadi penurunan ekspresi gen BCL2 yang semestinya pada sel kanker payudara T47D setelah pemberian ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* Linn). Melainkan hanya ada perubahan pada sel yang dilihat dibawah mikroskop.

## Ucapan Terima Kasih

Ucapan terimakasih peneliti sampaikan kepada Elemenesia Foundation yang telah memberikan pendanaan penelitian secara parsial, pihak Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Andalas yang telah membantu dan memwadhahi penelitian ini.

## Daftar Pustaka

1. Wijaya CA, Mughtaridi M. Pengobatan Kanker Melalui Metode Gen Terapi. *Farmaka*. 2017;15(1):53–68.
2. Release P. International agency for research on cancer. *Asian Pacific J Cancer Prev*. 2003;4(1):3–4.
3. Lavanchy G, Strehler M, Llanos Roman MN, Lessard-Therrien M, Humbert JY, Dumas Z, et al. Habitat heterogeneity favors asexual reproduction in natural populations of grasshoppers. *Evolution*. 2016;70(8):1780–90.
4. Minarni. AKTIVITAS ANTIKANKER EKSTRAK ETIL ASETAT KAPANG ENDOFIT DAUN SIRSAK ( *Annona muricata* L.)
5. Harahap WA. Pembedahan Pada Tumor Ganas Payudara. *Maj Kedokt Andalas*. 2015;38:57.
6. Moghadamtousi SZ, Fadaeinasab M, Nikzad S, Mohan G, Ali HM, Kadir HA. *Annona muricata* (Annonaceae): A review of its traditional uses, isolated acetogenins and biological activities. *Int J Mol Sci*. 2015;16(7):15625–58.
7. Kurniasih N, Kusmiyati M, Nurhasanah, Sari RP, Wafdan R. Potensi Daun Sirsak ( *Annona muricata* Linn ), Daun Binahong ( *Anredera cordifolia* ( Ten ) Steenis ), dan Daun Benalu Mangga ( *Dendrophthoe pentandra* ) Sebagai Antioksidan Pencegah Kanker. *J Edisis*. 2015;IX(1):162–84.
8. Muhartono, Subekti. Penggunaan Ekstrak Daun Sirsak sebagai Obat Kemoterapi Kanker Payudara Soursop Leaf Extract as Chemotherapy Drugs for Breast Cancer. *Pros Semin Present Artik Ilm Dies Natalis FK Unila ke 13*. 2015;1–8.
9. Pertiwi W, Arisanty D. Artikel Penelitian Pengaruh Ekstrak Daun Sirsak ( *Annona muricata* Terhadap Viabilitas Cell Line Kanker Payudara T47D Secara In Vitro.

- 9(Supplement 1):165–70.
10. Suryawinata A, Sukohar A. Potensi Annonaceous acetogenins dari Sirsak ( *Annona muricata* ) sebagai Agen Kemoterapi melalui Induksi Apoptosis dan Inhibisi HIF-1. Majority [Internet]. 2016;5(5):97–101.
  11. Anonim. Mekanisme Dan Reglasi Apoptosis. CCRC Farm UGM, Yogyakarta. 2006;1–17.
  12. O'Brien MA, Kirby R. Apoptosis: A review of pro-apoptotic and anti-apoptotic pathways and dysregulation in disease. *J Vet Emerg Crit Care*. 2008;18(6):572–85.
  13. Dai H, Meng W, Kaufmann S. BCL2 Family, Mitochondrial Apoptosis, and Beyond. *Cancer Transl Med*. 2016;2(1):7.
  14. Dewson G, Kluck RM. Bcl-2 family-regulated apoptosis in health and disease. Vol. 2, *Cell Health and Cytoskeleton*. 2010.
  15. pustaka AgroMedia. Bukti kedahsyatan sirsak menumpas kanker.
  16. Yarsi J. Protein kelompok BCL-2 sebagai target senyawa antikanker BCL-2- family proteins as target of anticancer drug. 2006;14(3):238–42.
  17. F J et al. Dail and Hammar's Pulmonary Pathology. 2001. 34 p.
  18. Supraptiningsih E, Nugroho S, Wahyun E, Antara H, Bax E, Rasio DAN, Dengan BAXB-. CORRELATION OF BAX , BCL-2 , AND BAX / BCL-2 RATIO TO THE RESPONSE OF INDUCTION CHEMOTHERAPY IN CHILDREN WITH ACUTE MYELOID LEUKEMIA. 2019;6:236–43.
  19. Moghadamtousi SZ, Kadir HA, Paydar M, Rouhollahi E, Karimian H. *Annona muricata* leaves induced apoptosis in A549 cells through mitochondrial-mediated pathway and involvement of NF- $\kappa$ B. *BMC Complement Altern Med*. 2014;14(1):1–13.
  20. Muhartono M, Subeki S. Aktivitas Antikanker Senyawa Brusein-A terhadap Ekspresi Bax pada Tikus yang Diinduksi Dimetilbenz ( $\alpha$ ) antrasen. *J Kedokt Univ Lampung*. 2017;1(3):469–72.
  21. Shamas-Din A, Kale J, Leber B, Andrews DW. Mechanisms of action of Bcl-2 family proteins. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2013;5(4):1–21.