

## Profil Ekspresi MikroRNA Kanker Payudara di Purwokerto

Ari Dwi Nurasih, Indah Sulistiyawati, Muhammad Falah

### Abstrak

Penemuan metode deteksi dini kanker payudara secara sensitif, spesifik dan minimal invasif merupakan kunci dalam keberhasilan pengobatan. Hal ini dapat dilakukan menggunakan biomarker yang bersirkulasi dalam plasma darah yaitu mikroRNA. MikroRNA adalah asam ribonukleat yang tidak mengkode protein tetapi memiliki peran dalam menghambat dan mendegradasi mRNA sehingga mempengaruhi perkembangan kanker. **Tujuan:** Mengetahui profil ekspresi mikroRNA pada pasien kanker payudara di Purwokerto dan mikroRNA yang mengalami disregulasi sebagai kandidat biomarker kanker payudara. **Metode:** Analisis profil ekspresi mikroRNA pada kanker payudara dilakukan dengan isolasi plasma dari pasien kanker payudara dan individu sehat, sintesis cDNA, dan kuantifikasi mikroRNA dengan *quantitative real time* PCR (qPCR). Kemudian dilakukan penghitungan dengan metode Livak untuk mengetahui mikroRNA yang mengalami peningkatan dan penurunan ekspresi yang signifikan. **Hasil:** Biomarker kanker payudara di Purwokerto adalah MikroRNA yang mengalami *upregulation* adalah hsa-miR-543 (sebanyak 1612,28 kali), hsa-miR-495-3p (1797,95 kali), hsa-miR-382-5p (8780,32 kali), hsa-miR-155-5p (8552,18 kali) dan hsa-miR-154-5p (2339,41 kali). mikroRNA yang mengalami *downregulation* adalah hsa-miR-590-5p (sebanyak 4,70 kali), hsa-miR-33a-5p (sebanyak 74,29 kali), hsa-miR-100-5p (sebanyak 23,09 kali), hsa-miR-19b-3p (sebanyak 11,71 kali) dan hsa-miR-144-3p (sebanyak 25,30 kali) ( $p < 0,05$ ). **Simpulan:** Biomarker yang dapat digunakan sebagai alat deteksi dan diagnostik dini kanker payudara di Purwokerto adalah miR-382-5p.

**Kata kunci:** biomarker, kanker payudara, mikroRNA, qPCR

### Abstract

*The discovery of sensitive, specific and minimally invasive early detection methods is key to the successful treatment of breast cancer. This can be done using biomarkers circulating in the blood plasma that is microRNA. MicroRNA is a ribonucleic acid that does not encode proteins but has a role in inhibiting and degrading mRNA, thus affecting the development of cancer. Objectives: To know the profile of microRNA expression in breast cancer patients in Purwokerto and the microRNA that has been regulated as a candidate for breast cancer biomarkers. Methods: Analysis of microRNA expression profile in breast cancer was done by plasma isolation from breast cancer patients and healthy controls, cDNA synthesis, and microRNA quantification with quantitative real-time PCR (qPCR). The calculation was done by Livak method to find out the microRNA that had increased and decreased expression significantly. Results: Breast cancer biomarker in Purwokerto was microRNA that experienced upregulation was hsa-miR-543, hsa-miR-495-3p, hsa-miR-382-5p, hsa-miR-155-5p, and hsa-miR-154-5p. The microRNA that experienced downregulation was hsa-miR-590-5p, hsa-miR-33a-5p, hsa-miR-100-5p, hsa-miR-19b-3p, and hsa-miR-144-3p ( $p$ -value  $< 0,05$ ). Conclusion: The biomarker that can be used as an early detection tool for breast cancer in Purwokerto is miR-382-5p.*

**Keywords:** biomarker breast cancer, microRNA, qPCR

**Affiliasi penulis:** Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Nahdlatul Ulama Purwokerto

**Korespondensi :** Ari Dwi Nurasih, Email: aridwinurasih@gmail.com

Telp. 082241931061

### PENDAHULUAN

Kanker payudara adalah jenis kanker yang paling banyak diderita wanita baik di Indonesia maupun di dunia dan insidensinya meningkat setiap tahunnya.<sup>1</sup> Peningkatan insidensi dan kematian kanker payudara

di Indonesia karena kanker payudara ditemukan dalam stadium lanjut, adanya penundaan pemeriksaan dan berobat ke pelayanan medis, selain itu kurangnya pengetahuan mengenai gejala kanker dan pemeriksaan payudara sendiri sebagai metode deteksi dini yang masih jarang dilakukan. Penundaan pemeriksaan karena gejala awal kanker payudara tidak begitu jelas atau tidak terasa nyeri.<sup>2</sup> Perubahan gaya hidup karena meningkatnya pembangunan dan ekonomi, menurunnya aktifitas fisik meningkatkan faktor resiko kanker payudara. perubahan fertilitas dan perubahan berat badan serta harapan hidup juga dapat meningkatkan insidensi kanker payudara.<sup>3</sup> Palpasi merupakan alat skrining yang paling diandalkan untuk kanker payudara. Metode pemeriksaan histopatologi merupakan metode yang terpercaya dalam mendiagnosis kanker payudara dari lesi payudara, sehingga harus dilakukan pembedahan. Metode ini juga tergantung dengan cara pengambilan sampel dan kemampuan pembacaan hasil oleh patologi, sehingga kesahihan hasil pemeriksaan subjektif.<sup>4</sup> Berdasarkan hal diatas, maka diperlukan upaya yang berkesinambungan untuk memperoleh *biomarker* yang lebih objektif, sensitif, spesifik dan minimal invasif. Salah satu *biomarker* kanker yang potensial adalah mikroRNA (miRNA).

MikroRNA adalah asam ribonukleat yang tidak mengkode protein dengan transkrip akhir sepanjang 18-25 nukleotida yang berinteraksi dengan target gen yang mengkode RNA.<sup>5</sup> MikroRNA memiliki peran penting dalam proses dalam tubuh dengan cara meregulasi ekspresi gen pada tahap *post-transcriptional*,<sup>6</sup> melalui ikatan basa komplementer yang tidak sempurna dengan mRNA target. MikroRNA juga dapat menyebabkan *gene silencing* melalui proses destabilisasi dan degradasi mRNA target sehingga menyebabkan penurunan jumlah protein.<sup>7</sup> Satu miRNA dapat menarget banyak mRNA dan disekresikan dari sel sehingga dapat ditemukan di cairan tubuh termasuk sirkulasi darah.<sup>8</sup> Disregulasi mikroRNA memiliki peranan besar dalam tumorigenesis. MikroRNA yang mengalami overekspresi menarget gen tumor supresor sedangkan miRNA yang mengalami penurunan ekspresi mengatur onkogen.<sup>9</sup> MikroRNA dapat digunakan sebagai *biomarker* karena

dkeluarkan oleh kanker ke sirkulasi darah dan dapat dideteksi pada cairan tubuh seperti darah, urine, saliva, serum dan plasma.<sup>10</sup> Penemuan miRNA memberikan peluang untuk pengembangan *biomarker* baru ditengah munculnya resistensi kasus *breast cancer* terhadap obat yang sekarang sudah ada. Pada *breast cancer*, miRNA memiliki peran dalam inisiasi, perkembangan, metastasis, resistensi terhadap obat sehingga menjadikan miRNA sebagai *biomarker* dan target terapi menjadi sangat menjanjikan untuk peningkatan keberhasilan pengobatan.<sup>11</sup> MikroRNA memiliki ekspresi yang berbeda pada setiap etnis.<sup>12</sup> Oleh karena itu tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui profil ekspresi mikroRNA pada pasien kanker payudara di Purwokerto dan mengetahui mikroRNA yang mengalami disregulasi sebagai kandidat biomarker kanker payudara.

## METODE

### Pengkoleksian Sampel

*Ethical clearance* didapatkan dari Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Soedirman dengan nomor 175/KEPK/VIII/2020 dan Rumah Sakit Margono Soekardjo dengan nomor 420/11091/X/2020. Sampel darah 6 pasien kanker payudara diambil dari Poliklinik Bedah Onkologi Rumah Sakit Margono Soekardjo dengan periode waktu Oktober – November 2020. Sampel darah individu sehat diambil di Laboratorium An-Nur. Pengambilan sampel darah sebanyak 5 mL masing-masing responden dengan menandatangani *informed consent* terlebih dahulu. Kriteria pasien kanker payudara adalah: wanita penderita kanker payudara *early stage* (maksimal stadium 3A), domisili di Purwokerto dan tidak memiliki penyakit selain kanker. Kontrol sehat adalah wanita sehat jasmani dan rohani, tidak memiliki penyakit dan domisili di Purwokerto.

### Isolasi Plasma

Sampel darah sebanyak 5 mL pada tabung EDTA disentrifugasi dengan kecepatan 1500 rpm selama 10 menit. Supernatan diambil dengan menggunakan pipet dan dipindahkan ke tabung 1,5 mL. Plasma dapat disimpan di *freezer* -80°C.

### Isolasi RNA dan Sintesis cDNA

Isolasi RNA menggunakan *miRCURY RNA Isolation Kit-Biofluid* dan sintesis cDNA dilakukan menggunakan *universal cDNA synthesis kit II 8-64 rxns* yang dilakukan sesuai protokol. Kemurnian dan konsentrasi RNA hasil isolasi diukur menggunakan spektrofotometer *NanoValue Plus*.

### Profiling MikroRNA menggunakan *quantitative real time PCR (qPCR)*

Eksresi mikroRNA pada pasien kanker payudara dan individu sehat dilakukan menggunakan hasil sintesis cDNA. Prosedur *profiling* mengikuti protokol dari *miRCURY LNA™ Universal R MicroRNA PCR Panel* dengan modifikasi. Kit yang digunakan *ExiLent SYBR Green master mix*, 2.5 mL. Program *real time PCR* pada mesin Biorad CFX 96 diatur sebagai berikut: denaturasi pada suhu 95 °C selama 10 menit, amplifikasi pada suhu 95 °C selama 10 detik sebanyak 40 siklus, *ramp-rate* 1,6 °C/s *optical read* pada suhu 60 °C selama 1 menit dan analisis kurva leleh.

### Analisis Hasil Profiling

Hasil *running* dengan qPCR dianalisis dengan *Biorad CFX Manager™ Software* untuk memperoleh nilai *Cycle of Quantification (Cq)*, *quantification curve* dan *melting curve*. Kemudian dianalisis dengan GenEx MultiID untuk mengetahui *reference gene* dan nilai *fold change*. Pengukuran ekspresi mikroRNA diketahui menggunakan rumus Livak.<sup>13</sup> Data yang diperoleh diuji statistik dengan uji Mann Whitney (*P-value* < 0,05).

### Hasil

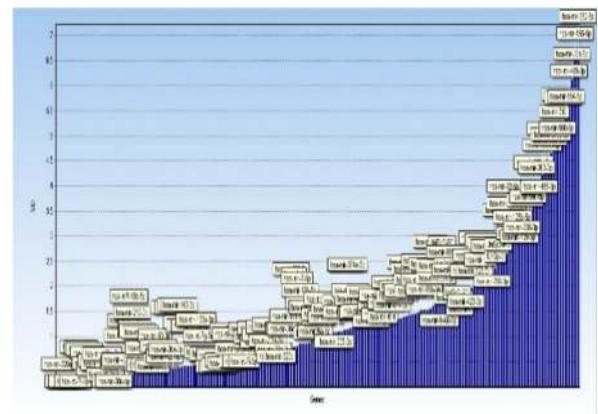
Sampel dipilih berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi. Pasien kanker payudara adalah pasien rawat jalan di Poliklinik bedah Onkologi dengan kondisi stadium awal, belum menjalani kemoterapi dan tidak memiliki penyakit kronis lainnya. Darah diambil sebanyak satu kali saat pasien kontrol di poliklinik. Sampel individu sehat diambil di Laboratorium An-Nur dengan kondisi wanita sehat, tidak memiliki penyakit dan tidak sedang hamil. Sampel darah responden diambil plasma darahnya kemudian dilakukan analisis.

### RNA Hasil Isolasi Sampel Plasma Darah Pasien Kanker Payudara dan Individu Sehat

RNA yang telah diisolasi digunakan untuk pengukuran profil ekspresi mikroRNA dan akan mempengaruhi hasil pengukuran. Hasil isolasi RNA lalu diukur konsentrasi dan kemurniannya menggunakan spektrofotometer *NanoValue plus* dan menunjukkan kemurnian antara 1,9 – 2,0. Kemudian dilakukan sintesis cDNA agar lebih stabil saat digunakan untuk kuantifikasi mikroRNA.

### Penentuan Reference Gene

Normalisasi jumlah RNA pada proses PCR digunakan *reference gene*. *Reference gene* atau internal kontrol mempengaruhi nilai kuantifikasi target molekul sehingga sangat diperlukan untuk mendapatkan molekul yang tepat. Ada beberapa syarat yang harus dipenuhi dalam pemilihan suatu molekul sebagai *reference gene*, yaitu: a). Ekspresi stabil pada kelompok pasien dan individu sehat, b). Memiliki SD (Standar Deviasi) 0 atau mendekati 0. Untuk melakukan kuantifikasi, penelitian ini menganalisis 192 set primer target mikroRNA menggunakan panel profiling dan instrumen Biorad CFX manager (Gambar 1). *Reference gene* yang paling optimal berdasarkan analisis statistik menggunakan GenEx multiD adalah *hsa-let-7f-5p* (SD 0,0002).



**Gambar 1.** Analisis kandidat *reference gene* menggunakan 192 set primer target menggunakan GenEx MultiD

### Profiling MikroRNA

Hasil sintesis cDNA pasien kanker payudara dan individu sehat dikuantifikasi dengan *quantitative real time* PCR (qPCR). Hasil qPCR dapat dilihat dengan *software Biorad CFX Manager™* dan akan menunjukkan kurva *melt peak* untuk memastikan spesifitas reaksi qPCR, nilai optimum *melting temperature* dari masing-masing gen target. Analisis level ekspresi mikroRNA menggunakan qPCR akan mendapatkan nilai Cq (*cycle of quantification*) yang dapat digunakan sebagai dasar dalam menghitung level ekspresi mikroRNA yang dikuantifikasi. Nilai Cq menunjukkan jumlah *copy number* mikroRNA pada masing-masing sampel. Nilai Cq yang diperoleh terdistribusi tidak normal, sehingga perbedaan ekspresi mikroRNA pasien dan individu sehat digunakan uji Mann Whitney dengan nilai signifikansi 0,000 ( $p < 0,05$ ) yang berarti ada perbedaan rerata nilai Cq antara pasien kanker payudara dan individu sehat. Dilanjutkan dengan menghitung nilai *fold change* menggunakan metode Livak merupakan suatu standar dalam menghitung jumlah ekspresi suatu gen, yaitu menggunakan metode kuantifikasi *fold change* (metode  $2^{-\Delta \Delta Cq}$ ) dari hasil perhitungan ekspresi didapatkan nilai *fold change* sehingga diketahui mikroRNA yang mengalami *upregulation* dan *downregulation*. Hasil kuantifikasi tersebut diindikasikan terdapat beberapa mikroRNA yang mengalami *dysregulation* (perubahan fungsi) sehingga mengganggu proses fisiologis dari sel sehingga berkembang menjadi kanker payudara. Dari 192 set primer yang digunakan, terdapat 5 mikroRNA yang mengalami *upregulation* dan 5 mikroRNA yang mengalami *downregulation* (Tabel 1).

MikroRNA yang mengalami *upregulation* adalah hsa-mir-543 (sebanyak 1612,28 kali), hsa-mir-495-3p (1797,95 kali), hsa-mir-382-5p (8780,32 kali), hsa-mir-155-5p (8552,18 kali) dan hsa-mir-154-5p (2339,41 kali). Sedangkan mikroRNA yang mengalami *downregulation* adalah hsa-mir-590-5p (sebanyak 4,70 kali), hsa-mir-33a-5p (sebanyak 74,29 kali), hsa-mir-100-5p (sebanyak 23,09 kali), hsa-mir-19b-3p (sebanyak 11,71 kali) dan hsa-mir-144-3p (sebanyak 25,30 kali). *Biomarker* yang paling spesifik adalah miR-382-5p karena memiliki perbedaan ekspresi yang

jelas antara pasien kanker payudara dan individu sehat ( $p < 0,05$ ).

**Tabel 1.** Profil Ekspresi MikroRNA berupa *fold change* yang memiliki nilai signifikan dari sampel plasma penderita kanker payudara

MikroRNA	Ekspresi	Dysregulation	Sifat
hsa-mir-590-5p	-4,70	Downregulation	TS
hsa-mir-33a-5p	-74,29	Downregulation	TS
hsa-mir-100-5p	-23,09	Downregulation	TS
hsa-mir-19b-3p	-11,71	Downregulation	TS
hsa-mir-144-3p	-25,30	Downregulation	TS
hsa-mir-543	1612,28	Upregulation	O
hsa-mir-495-3p	1797,95	Upregulation	O
hsa-mir-382-5p	8780,32	Upregulation	O
hsa-mir-155-5p	8552,18	Upregulation	O
hsa-mir-154-5p	2339,41	Upregulation	O

Keterangan:

tanda (-) : mengalami penurunan ekspresi

TS : *Tumor suppressor* miR

O : OnkomiR (Onkogen miR)

### PEMBAHASAN

Profil ekspresi mikroRNA merupakan alat diagnostik yang penting karena dapat mengetahui mikroRNA yang berperan sebagai onkomiR (onkogen miRNA) dan *tumor suppressor* miR. Adanya ekspresi dan fungsi menyimpang dari miRNA yang ditemukan pada beberapa penyakit manusia menjadikan miRNA menjadi target pengobatan yang lebih baik. Pada kanker, ditemukan miRNA dengan karakteristik tertentu yang menjadi titik pengobatan ideal dengan fungsinya sebagai onkogen atau gen tumor supresor.<sup>13</sup>

MikroRNA yang mengalami disregulasi (mengalami peningkatan atau penurunan ekspresi) merupakan kandidat *biomarker* yang menjanjikan karena merupakan alat deteksi dan diagnostik dini tanpa melalui pembedahan. Oleh karena itu, perbedaan ekspresi mikroRNA pada pasien kanker payudara dan individu sehat dapat dijadikan *biomarker*.<sup>14</sup>

RNA hasil isolasi diukur terlebih dahulu dengan spektrofotometer *Nanovalve plus* dan menunjukkan hasil bahwa RNA hasil isolasi dari sampel plasma darah pasien kanker payudara dan individu sehat

merupakan RNA murni karena memiliki rasio  $A_{260}/A_{280}$  antara 1,9 – 2,0. Menurut kepustakaan,<sup>15</sup> tingkat kemurnian RNA diketahui dengan mengukur jumlah absorbansi pada  $\lambda_{230}$  nm,  $\lambda_{260}$  nm,  $\lambda_{280}$  nm kemudian mengukur rasio  $A_{260}$  terhadap  $A_{280}$  dan rasio  $A_{260}$  terhadap  $A_{230}$ . Kemudian dilakukan sintesis cDNA agar lebih stabil saat digunakan untuk kuantifikasi.

Instrumen yang digunakan untuk menganalisis kuantifikasi perubahan ekspresi molekul adalah *quantitative real time* PCR (qPCR) karena memiliki spesifitas dan sensitivitas yang tinggi untuk deteksi mikroRNA dibandingkan *microarray*, *flowcytometry*, *in situ hybridization*, dan *northern blotting*. Prinsip kerja qPCR berdasarkan deteksi fluoresensi yang diproduksi oleh molekul reporter yang meningkat sejalan dengan berlangsungnya proses PCR. Metode qPCR memiliki keunggulan dibandingkan metode lain karena memiliki sensitivitas yang tinggi. MikroRNA memiliki sekuens yang pendek sehingga untuk mendeteksi miRNA dibutuhkan metode yang sangat sensitif.<sup>16</sup>

MikroRNA hsa-mir-543 mengalami peningkatan ekspresi sebanyak 1612,28 kali, hsa-mir-495-3p sebanyak 1797,95 kali, hsa-mir-382-5p sebanyak 8780,32 kali, hsa-mir-155-5p sebanyak 8552,18 kali dan hsa-mir-154-5p sebanyak 2339,41 kali. Hal ini menunjukkan bahwa pada kanker payudara mikroRNA tersebut berperan sebagai onkomiR (onkogen miRNA). Onkogen miRNA merupakan mikroRNA yang mengalami overekspresi pada kanker sehingga memacu perkembangan kanker dan menghambat gen *tumor suppressor* dan gen yang mengontrol apoptosis atau diferensiasi sel.<sup>17</sup> MikroRNA-543 berdasarkan hasil penelitian merupakan onkogen miR kanker payudara. Pada kanker hati, miR-543 merupakan onkogen karena mengalami peningkatan ekspresi dan meningkatkan proliferasi sel dengan menarget PAQR3.<sup>18</sup>

MikroRNA-495-3p pada penelitian ini merupakan onkogen kanker payudara. Pada penelitian kanker lambung, miR-494-3p berperan sebagai tumor supresor miR karena menghambat pertumbuhan dan proliferasi kanker.<sup>19</sup> MikroRNA-382-5p merupakan onkogen pada kanker payudara karena ekspresinya tinggi dan menarget RERG (*Ras-related and estrogen-*

*regulated growth inhibitor*) yang merupakan tumor supresor gen.<sup>20</sup> MikroRNA-155 onkogenik pada kanker payudara.<sup>21</sup> *Upregulation* miR-155 mampu menurunkan mRNA dan protein HIF1A yang berperan dalam banyak respon fisiologis maupun patologis pada kondisi hipoksia. Penempelan miR-155-5p pada 3'UTR mRNA HIF1A menyebabkan penghambatan translasi atau degradasi mRNA target.<sup>7</sup> MiR-155 dapat digunakan sebagai *biomarker* pada kanker paru-paru terutama *non-small cell lung cancer* (NSCLC), sehingga miR-155 dapat menjadi *biomarker* yang efektif.<sup>22</sup> MikroRNA-154-5p merupakan onkogen yang meregulasi fungsi seluler dan berperan sebagai penanda molekuler. miR-154-5p juga mereduksi sel apoptosis dan meningkatkan proliferasi sel, viabilitas dan migrasi sel kanker ginjal.<sup>23</sup>

MikroRNA yang mengalami penurunan ekspresi adalah hsa-mir-590-5p sebanyak 4,70 kali, hsa-mir-33a-5p sebanyak 74,29 kali, hsa-mir-100-5p sebanyak 23,09 kali, hsa-mir-19b-3p sebanyak 11,71 kali dan hsa-mir-144-3p sebanyak 25,30 kali. Hal ini menunjukkan bahwa mikroRNA tersebut merupakan *tumor suppressor* miR. *Tumor suppressor* miRNA merupakan mikroRNA yang mengalami penurunan ekspresi pada kanker.<sup>17</sup> MikroRNA tersebut mengatur onkogen (gen penyebab kanker).<sup>24</sup>

MiR-590-5p dapat digunakan sebagai *biomarker* kanker payudara karena mengalami *downregulation*. MiR-590-5p menghambat kanker payudara dengan menarget SOX2.<sup>25</sup> MiR-33 berperan sebagai *tumor suppressor* pada kanker payudara dengan menarget EZH2 sehingga dapat menghambat proliferasi dan mobilitas sel.<sup>26</sup> Pada kanker hati, ekspresi miR-33-5p juga mengalami penurunan.<sup>27</sup> MiR-100-5p pada kanker payudara berperan sebagai *tumor suppressor* miR, namun pada kanker ginjal berperan sebagai onkogen miR. Hal ini dapat terjadi karena setiap mikroRNA dapat menarget banyak mRNA sehingga dapat berbeda peran pada setiap kanker.<sup>28</sup> Pada kanker payudara, miR-19b-3p menghambat proliferasi sel dengan meregulasi PI3K/Akt *pathway* dengan menarget gen PIK3CA.<sup>29</sup> MiR-144 merupakan *tumor suppressor* miR pada kanker payudara dengan menghambat ZEB 1/2 sehingga proliferasi sel, migrasi dan invasi sel terhambat.<sup>30</sup>

## SIMPULAN

Profil ekspresi mikroRNA pada plasma darah pasien kanker payudara di Purwokerto adalah mikroRNA yang mengalami *upregulation* (peningkatan ekspresi) adalah miR-543, miR-495-3p, miR-382-5p, miR-155-5p, dan miR-154-5p.

MikroRNA yang mengalami *downregulation* (penurunan ekspresi) adalah miR-590-5p, miR-33-5p, miR-100-5p, miR-19b-3p, dan miR-144-3p. *Biomarker* yang dapat digunakan sebagai alat eteksi dan diagnostik kanker payudara di Purwokerto adalah miR-382-5p.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Kementerian Riset dan Teknologi/Badan Riset dan Inovasi Nasional (Kemristek/BRIN) yang telah memberikan pendanaan untuk penelitian dosen pemula tahun anggaran 2020, dan semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan artikel penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Siegel R, Ma J, Zou Z, Jemal A. Cancer statistics, 2014. CA: A Cancer Journal for Clinicians. 2014;64(1):9–29.
- Memon ZA, Kanwal N, Sami M, Larik PA, Farooq MZ. Risk of breast cancer among young women and importance of early screening. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention. 2015;16:7485–9.
- Youlden DR, Cramb SM, Yip CH, Baade PD, Asia S. Incidence and mortality of female breast cancer in the Asia - Pacific region. Cancer Biol Med. 2014;11(2):101–15.
- Ying ZS, Qian WU, Fen GAO, Chunbing Z, Xuewen Y. Serum microRNA-155 as a potential biomarker for breast cancer. Chin Sci Bull. 2012; 57(26):3466–8.
- Wuchty S, Arjona D, Bozdog S, Bauer PO. Involvement of microRNA families in cancer. Nucleic Acids Research. 2012;40(17):8219–26.
- Wang JIN, Chen J, Sen S. MicroRNA as biomarkers and diagnostics. J. Cell. Physiol. 2016. 230:25–30.
- George GP, Mittal RD. MicroRNAs: Potential biomarkers in cancer. Indian Journal of Clinical Biochemistry. 2010; 25 (1): 4–14.
- Farazi TA, Hoell JI, Morozov P, Tuschl T. MicroRNA cancer regulation. Adv Exp Med Biol. 2013;774:1–20.
- Falcone G, Felsani A, D'Agnano I. Signaling by exosomal microRNAs in cancer. Journal of Experimental & Clinical Cancer Research. 2015;34(32):1–10.
- Cheng HH, Yi HS, Kim Y, Kroh EM, Chien JW, Eaton KD, et al. Plasma processing conditions substantially influence circulating microRNA biomarker levels. PLoS One. 2013;8(6):1–11.
- Price C, Chen J. MicroRNAs in cancer biology and therapy: Current status and perspectives. Genes & Diseases. 2014;1(1):53–63.
- Wang X. Sequence analysis composition of seed sequence is a major determinant of microRNA targeting patterns. Bioinformatics. 2014; 30 (10): 1377–83.
- Bader A, Brown D, Stoudemire J, Lammers P. Developing therapeutic microRNAs for cancer. Gene Ther. 2014;18(12):1121–6.
- Leva G Di, Croce CM. The role of microRNAs in the tumorigenesis of ovarian cancer. Frontiers in Oncology. 2013;3(153):1–10.
- Rapley R, Manning DL, editor (penyunting). RNA Isolation and characterization protocols. Berlin: Springer;1998.
- Schwarzenbach H, Nishida N, Calin GA, Pantel K. Clinical relevance of circulating cell-free microRNAs in cancer. Nature Reviews Clinical Oncology. 2014;
- Bhardwaj A, Singh S, Singh AP. MicroRNA-based cancer therapeutics: Big hope from Small RNAs. Mol Cell Pharmacol. 2011;2(5):213–9.
- Yu L, Zhou L, Cheng Y, Sun L, Fan J, Liang J, et al. MicroRNA-543 acts as an oncogene by targeting PAQR3 in hepatocellular carcinoma. Am J Cancer Res. 2014;4(6):897–906.
- Eun JW, Kim HS, Shen Q, Yang HD, Kim SY. MicroRNA-495-3p functions as a tumour suppressor by regulating multiple epigenetic modifiers in gastric carcinogenesis. The Journal of Pathology. 2017;244(1).
- Ho J, Hsu R, Liu J, Chen S, Liao G. MicroRNA-382-5p aggravates breast cancer progression by regulating the RERG / Ras / ERK signaling axis.

- Oncotarget. 2017;8(14):22443–59.
21. Harahap WA. Peranan microRNA dalam diagnosis dan tata laksana kanker payudara. *Majalah Kedokteran Andalas*. 2019; 42 (3S): 85–94.
  22. Gao F, Chang J, Wang H, Zhang G. Potential diagnostic value of miR-155 in serum from lung adenocarcinoma patients. *Oncology Report*. 2014;31:351–7.
  23. Lin C, Li Z, Chen P, Quan J, Pan X, Zhao L. Oncogene miR-154-5p regulates cellular function and acts as a molecular marker with poor prognosis in renal cell carcinoma. *Life Sciences*. 2018;209(April):481–9.
  24. Kinose Y, Sawada K, Nakamura K, Kimura T. The Role of MicroRNAs in Ovarian Cancer. *Biomed Rest Int*. 2014;249393.
  25. Zhou L, Zhao L, Jiang N, Wang X, Zhou X, Luo X, *et al*. MicroRNA miR-590-5p inhibits breast cancer cell stemness and metastasis by targeting SOX2. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*. 2017;21:87–94.
  26. Weihua Z, Guorong Z, Xiaolong C, Weizhan L. MiR - 33a functions as a tumor suppressor in triple - negative breast cancer by targeting EZH2. *Cancer Cell International*. 2020;20(85):1–12.
  27. Meng W, Tai Y, Zhao H, Fu B, Zhang T, Liu W, *et al*. Downregulation of miR-33a-5p in hepatocellular carcinoma : A possible mechanism for chemotherapy resistance. *Medical Science Monitor*. 2017;1295–304.
  28. Chen P, Lin C, Quan J, Lai Y, He TAO, Zhou L, *et al*. Oncogenic miR - 100 - 5p is associated with cellular viability , migration and apoptosis in renal cell carcinoma. *Molecular Medicine Reports*. 2017;16:5023–30.
  29. Jin J, Sun Z, Yang F, Tang L, Chen W, Guan X. miR-19b-3p inhibits breast cancer cell proliferation and reverses saracatinib- resistance by regulating PI3K / Akt pathway. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 2018;645:54–60.
  30. Yuliang Pan, Jun Zhang, Huiqun Fu LS. miR-144 functions as a tumor suppressor in breast cancer through inhibiting ZEB1 / 2-mediated epithelial mesenchymal transition process. *Onco Targets and Therapy*. 2016;9:6247–55.