Majalah Kedokteran Andalas
Vol. 48, No. 1, Januari 2025, Hal. 1-12
http://jurnalmka.fk.unand.ac.id

ARTIKEL PENELITIAN

Analisis Ekspresi Protein c-Fos pada *Cell Line* Kanker Payudara

Husnul Amelia Elkhaima[1], Aisyah Elliyanti[2], Noza Hilbertina[3], Henny Mulyani[4], Wirsma Arif Harahap[5], Fathiya Juwita Hanum[6]

1. *Program Sarjana Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Andalas;*
2. *Departemen Radiologi dan Kedokteran Nuklir Fakultas Kedokteran Universitas Andalas;*
3. *Departemen Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas;*
4. *Departemen Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas;*
5. *Departemen Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Andalas;*
6. *Departemen Radioterapi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas*

Korespondensi: *Aisyah Elliyanti;* aelliyanti@med.unand.ac.id *; +62 8126636987*

Abstrak

Tujuan: Untuk menganalisis ekspresi protein c-Fos pada *cell line* kanker payudara. **Metode:** Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni menggunakan metode imunositofluoresens untuk melihat jumlah intensitas ekspresi protein c-Fos dengan sampel penelitian adalah *cell line* MCF-7 mewakili kanker payudara subtipe luminal A, *cell line* SKBR3 mewakili kanker payudara subtipe HER2+, dan *cell line* HaCat mewakili sel normal. Ekspresi protein c-Fos diinduksi dengan EGF 50 ng/mL, ATP 100µM dan gabungan ATP+EGF selama 45 menit. Perhitungan intensitas protein c-Fos menggunakan aplikasi imageJ. Hasil penelitian ekspresi c-Fos dianalisis menggunakan uji *oneway anova* apabila $p<0.05$ dianggap berbeda secara signifikan. **Hasil:** Ekspresi protein c-Fos pada *cell line* yang diberi perlakuan ATP dan EGF meningkat dibandingkan kontrol. Peningkatan intensitas protein c-Fos terdapat pada ketiga jenis *cell line*. Tidak terdapat perbedaan bermakna pada ketiga jenis sel berdasarkan jenis induksi ($p>0,05$). **Kesimpulan:** Pemberian ATP, EGF dan kombinasi ATP+EGF meningkatkan intensitas protein c-Fos pada *cell line* kanker payudara tipe MCF-7 dan SKBR3.
Kata kunci: ATP; EGF; Protein c-Fos; Intensitas

Abstract

Aims: *This study aims to analyze c-Fos protein expression in breast cancer cell lines.* ***Methods:*** *This research is an experimental study using the immunocytofluorescence method to see the intensity of c-Fos protein expression. The samples being the MCF-7 cell line representing luminal A subtype breast cancer, the SKBR3 cell line representing HER2+ subtype breast cancer, and the HaCat cell line representing normal cells. derived from human keratinocytes. c-Fos protein expression was induced with 50 ng/mL EGF, 100µM ATP and combined ATP+EGF for 45 minutes. Calculation of c-Fos protein intensity using the imageJ application. The results of the c-Fos expression were analyzed using the one-way ANOVA test and posthoc analysis, if $p<0.05$ was considered to be significantly different.* ***Results:*** *c-Fos protein expression in cell lines treated with ATP and EGF increased compared to control. The increase in c-Fos protein intensity was found in all three types of cell lines. There were no significant differences in the three cell types based on the type of induction ($p>0.05$).* ***Conclusion:*** *Administration of ATP, EGF and the combination of ATP+EGF increased the intensity of c-Fos protein in the MCF-7, SKBR3 and HaCaT (keratinocyte) cell lines.*
Keywords: *ATP; EGF; c-Fos Proetin*; *Intensity*

p-ISSN: 0126-2092
e-ISSN: 2442-5230

PENDAHULUAN

Kanker payudara merupakan kanker yang paling sering mengenai perempuan dan menjadi penyebab kematian terbanyak akibat kanker. Angka kejadian kanker payudara bervariasi secara global dimana terjadi peningkatan insiden di negara berkembang tetapi cenderung menurun di negara maju.[1] Menurut *World Health Organization* (WHO) pada tahun 2020, sebanyak 2,1 juta perempuan telah didiagnosis menderita kanker payudara setiap tahun.[2]

Data dari *Global Cancer Observatory* (GCO) 2020 tercatat bahwa kanker payudara menempati posisi pertama dengan jumlah kasus yaitu 2,2 juta kasus dan menempati urutan kelima terbanyak angka kematian yaitu sebanyak 684 ribu kasus.[3] Jumlah kanker payudara di Indonesia juga menempati posisi pertama dengan penambahan jumlah kasus baru yaitu 65 ribu kasus dan menempati angka kematian terbanyak kedua yaitu sebanyak 22 ribu kasus setelah kanker paru.[4] Peningkatan risiko perkembangan kanker payudara pada perempuan telah dikaitkan dengan usia, mutasi gen BRCA1 dan BRCA2, riwayat keluarga, paparan sinar radiasi di dada, reproduksi, estrogen endogen, hormonal terapi, obesitas dan konsumsi alkohol.[5]

Kanker payudara diklasifikasikan menjadi empat subtipe utama; luminal A, luminal B, HER2, dan basal sesuai dengan ekspresi reseptor hormon. Penelitian Arnetha, *et al*. (2020) memaparkan bahwa prevalensi kanker payudara berdasarkan subtipe molekularnya yaitu luminal A (46%), luminal B (12.7%), HER2 (27%), dan triple negative (14.3%). Penelitian tersebut didapatkan bahwa tipe terbanyak adalah luminal A.[6] Setiap subtipe kanker payudara ini memiliki prognosis dan respon pengobatan yang berbeda.[2] Luminal A memiliki angka kekambuhan yang rendah, dan merespon dengan baik terhadap terapi hormon atau endokrin. Luminal B memiliki angka kekambuhan yang tinggi dan kurang responsif terhadap terapi hormon atau endokrin, namun subtipe luminal A dilaporkan mengalami kekambuhan penyakit setelah diobati dengan tamoxifen sekitar 30% pasien.[7] Reseptor HER2 merupakan target dari terapi trastuzumab, namun demikian subtipe basal tidak memiliki target terapi yang dikenali, sehingga subtipe tersebut lebih sulit diobati dan sering kali memiliki prognosis yang buruk.[2]

Berdasarkan prognosis tersebut diperlukan suatu agen yang dapat mempengaruhi proliferasi dan apoptosis dari sel kanker untuk keperluan terapi. Penelitian sebelumnya mengenai peran gen terhadap sel kanker didapatkan suatu agen pro-apoptosis yang terdapat didalam sel yang dikenal dengan c-Fos. Protein c-Fos merupakan proto-onkogen anggota dari keluarga Fos, berperan sebagai aktivator transkripsi, berikatan dengan c-Jun membentuk komplek AP-1.[8] Fungsi fisiologis dari protein c-Fos adalah tranduksi sinyal, proliferasi dan differensiasi sel pada jaringan normal. Penelitian lainnya juga terdapat hasil yang berbeda mengenai peran c-Fos pada beberapa keganasan yakni sebagai fungsi penekan tumor dan proapoptosis, namun penelitian mengenai c-Fos pada keganasan pada payudara masih sangat sedikit.[9]

Pada kondisi sel yang normal, jumlah protein c-Fos pada sel sangat rendah sehingga pada jalur *upstream* dibutuhkan EGF atau ATP untuk menginduksi ekspresi protein c-Fos agar bisa berfungsi secara maksimal.[10] Beberapa penelitian yang terbaru telah mengangkat gagasan bahwa c-Fos

mungkin juga memiliki aktivitas penekan tumor dan mungkin memiliki fungsi dalam apoptosis.[9] Over ekspresi c-Fos ditemukan menghambat perkembangan siklus sel, merangsang kematian sel hepatosit murine dan sangat menekan pembentukan tumor secara in vivo.[11]

Penelitian Mikula, *et al*. (2003) menyatakan bahwa aktivitas penekan tumor dari c-Fos bisa menjadi fungsi pro-apoptosis, yang mungkin memberikan peningkatan kemoresistensi terhadap terapi dengan kadar protein c-Fos yang rendah. Induksi c-Fos menyebabkan apoptosis pada hepatosit murine yang secara kondisional mengekspresikan c-Fos.[11] Berdasarkan penelitian Jin, *et al* (2007) bahwa hilangnya ekspresi c-Fos berkorelasi dengan stadium yang lebih lanjut, metastasis kelenjar getah bening, invasi limfatik dan kelangsungan hidup yang lebih pendek, menunjukkan bahwa hilangnya ekspresi c-Fos dalam sel kanker lambung ini dikaitkan dengan prognosis buruk.[12]

Sebuah penelitian melaporkan bahwa c-Fos diekspresikan dalam MCF-7 yang mewakili subtipe luminal A. Pertumbuhan sel kanker payudara positif estrogen receptor (ER) secara efektif dihambat oleh Tam67 tetapi sel kanker payudara ER negative tidak bisa dihambat dan sel jenis ini juga tidak mengekspresikan c-Fos.[13] dan dihipotesiskan bahwa tidak adanya ekspresi c-Fos pada sel SKBR3 terkait dengan tipe *cell line* ER negatif.[13] Penelitian sebelumnya pada sel HaCat (keratinosit normal) memperlihatkan bahwa sel ini tidak mengekspresikan gen c-Fos. Sel HaCat yang digunakan dalam penelitian ini bertujuan untuk melihat efek sistemik dari pemberian iodium radioaktif terhadap organ tubuh manusia selain sel payudara.[13]

Merujuk dari keseluruhan latar belakang di atas, insidensi kanker payudara masih sangat tinggi terjadi baik di dunia maupun di Indonesia yang disertai dengan cukup besarnya angka kasus kanker payudara yang tidak respon dengan terapi yang ada, serta adanya ekspresi protein c-Fos pada beberapa tipe sel kanker payudara yang ikut berperan pada proses kematian sel, maka peneliti tertarik untuk meneliti ekspresi protein c-Fos pada *cell line* kanker payudara sel MCF-7 dan SKBR3 (mewakili subtipe *cell line* yaitu luminal A dan HER2), dan sel HaCat sebagai sel kontrol menggunakan ATP *(Adenosina trifosfat)* dan EGF *(Epidermal Growth Factor)* untuk menginduksi protein c-Fos.

METODE

Penelitian ini menggunakan metode eksperimentaldengan pendekatan kuantitatif. Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian induk mengenai hubungan ekspresi c-Fos terhadap *survival rate cell line* kanker payudara MCF-7 yang mempresentasikan tipe luminal A, SKBR3 yang mempresentasikan tipe HER2+, dan sel HaCat yang mempresentasikan sel keratin normal.

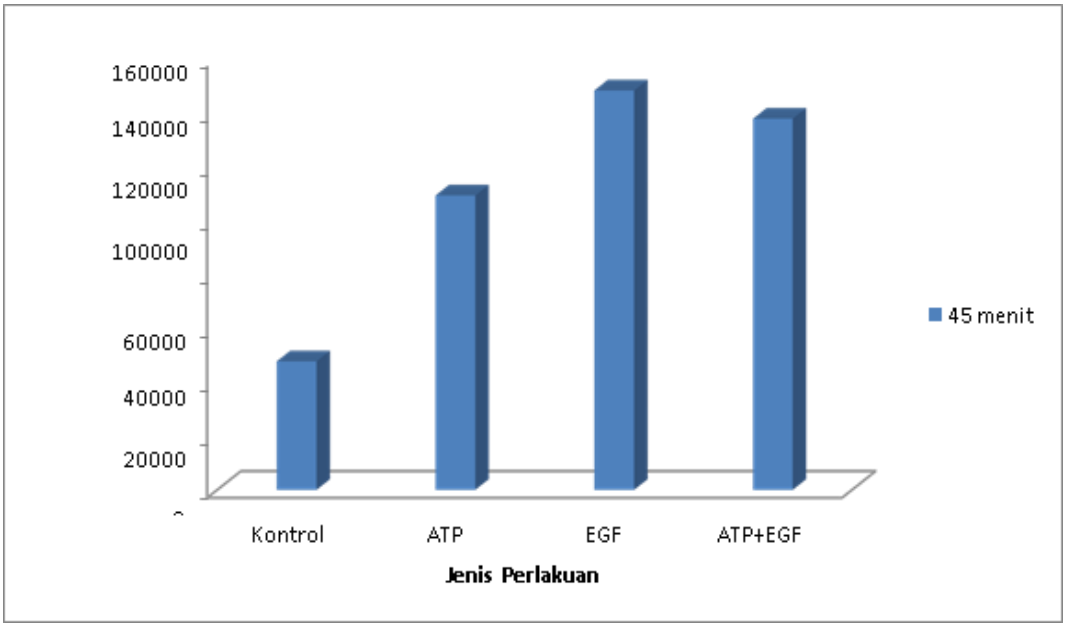
Jumlah sampel dari tiap kelompok perlakuan dihitung dengan menggunakan rumus Federer. Dari perhitungan didapatkan jumlah sampel adalah 3 untuk setiap perlakuan induksi ATP 100µM, EGF 50ng/ml dan kombinasi keduanya dengan durasi induksi 45 menit.

Prosedur pada penelitian ini yaitu melakukan kultur *cell line*, pemberian ATP, EGF dan kombinasi ATP+EGF, pewarnaan imunositofluoresens dan penghitungan imunositofluoresens. Ekspresi protein c-Fos pada sel dinilai secara imunositofluoresens menggunakan

mikroskop immunofluoresensi pada panjang gelombang 450 nm. Penghitungan intensitas ekspresi protein c-Fos dinilai dari rerata 3 lapangan pandang pada perbesaran 200x, kemudian dihitung menggunakan aplikasi image J.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Intensitas ekspresi c-Fos dengan berbagai dosis induksi terhadap *cell line* MCF-7 secara in vitro, didapatkan hasil ekspresi C-Fos meningkat setelah diberikan induksi ATP, EGF dan gabungan ATP+EGF seperti pada **gambar 1.**



Gambar 1. Diagram intensitas ekspresi protein c-Fos *cell line* MCF-7 setelah diberi perlakuan ATP, EGF dan gabungan ATP+EGF.

Untuk mengetahui hubungan antara masing-masing perlakuan dalam mempengaruhi intensitas ekspresi c-Fos dengan uji *oneway anova* yang sebelumnya sudah dilakukan uji normalitas dengan data terdistribusi normal, didapatkan hasil bahwa tidak terdapatnya perbedaan bermakna antara intensitas ekspresi c-Fos pada semua kelompok dosis dengan nilai *p* adalah 0.480 (p > 0.05) **(Tabel 1).**

Tabel 1. Pengaruh jenis perlakuan ATP, EGF dan gabungan ATP+EGF terhadap intensitas ekspresic-Fos *cell line* MCF-7

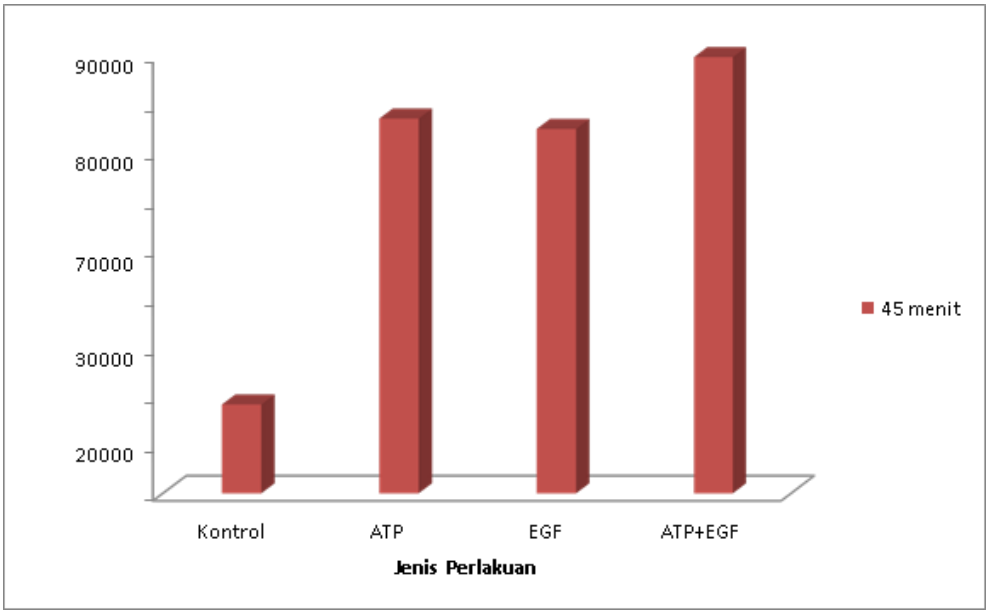
	Mean Rank	SD	Nilai *p*
ATP	101.251	15.892	0,48(>0,05)
EGF	123.290	24.110	
ATP+EGF	121.132	22.575	

Dari hasil penelitian tampak bahwa *cell line* MCF-7 yang diberi perlakuan EGF dengan dosis 50 ng/mL memiliki intensitas ekspresi c-Fos yang tertinggi, sedangkan intensitas ekspresi c-Fos yang terendah dimiliki oleh *cell line* MCF-7 yang kontrol (tanpa perlakuan). Hal ini sesuai dengan jalur/pathway aktivasi c-Fos yaitu pembentukan c-Fos diperlukan stimulus EGF dengan ligan ERK yang bisa menghasilkan downstream gen c-Fos, kemudian transkripsi menjadi c-Fos mRNA

lalu menjadi protein c-Fos. Protein inilah yang nanti akan berikatan dengan enzim koaktivator.[10] Hasil penelitian yang didapatkan pada penelitian ini juga sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Wagstaff (2000) *et.al* yaitu terdapat pengaruh pemberian ATP dan EGF yang dapat meningkatkan ekspresi protein c-Fos pada *cell line* MCF-7.[44] Penelitian lain yang dilakukan oleh Elda (2016) *et.al* juga memberikan hasil bahwa induksi ATP juga bisa meningkatkan ekspresi c-Fos pada sel tulang.[45] Pada penelitian yang dilakukan oleh Elliyanti (2016) *et.al* yaitu terdapat pengaruh pemberian EGF yang dapat meningkatkan ekspresi protein c-Fos pada *cell line* MCF-7 dengan induksi ATP.[8,54]

Intensitas Ekspresi Protein c-Fos pada *Cell Line* SKBR3

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan terkait ekspresi c-Fos berbagai dosis induksi ATP 100µM, EGF 50 ng/mL, dan gabungan ATP+EGF terhadap *cell line* SKBR3 secara in vitro, didapatkan hasil ekspresi c-Fos meningkat setelah diberikan induksi ATP EGF dan gabungan ATP+EGF seperti pada **gambar 2.**



Gambar 2. Diagram intensitas ekspresi protein c-Fos *cell line* SKBR3 setelah diberiperlakuan ATP, EGF dan gabungan ATP+EGF

Untuk mengetahui hubungan antara masing-masing perlakuan dalam mempengaruhi intensitas ekspresi c-Fos dengan uji *oneway anova* yang sebelumnya sudah dilakukan uji normalitas dengan data terdistribusi normal, didapatkan hasil bahwa tidak terdapatnya perbedaan bermakna antara intensitas ekspresi c-Fos pada semua kelompok dosis dengan nilai *p* adalah 0.445 (p > 0.05) **(Tabel 2).**

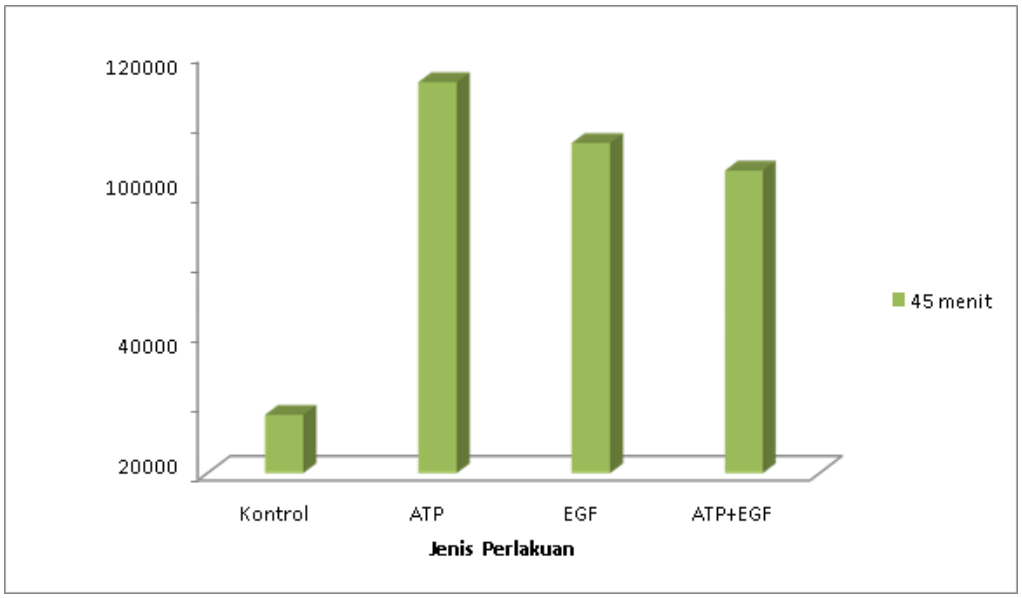
Tabel 2. Pengaruh jenis perlakuan ATP, EGF dan gabungan ATP+EGF terhadap intensitas ekspresic-Fos *cell line* SKBR3

	Mean Rank	SD	Nilai *p*
ATP	83.431	5.575	0,445(>0,05)
EGF	90.364	13.658	
ATP+EGF	92.912	3.918	

Dari hasil penelitian tampak bahwa *cell line* yang diberi perlakuan kombinasi ATP+EGF memiliki intensitas ekspresi c-Fos yang tertinggi, sedangkan intensitas ekspresi c-Fos yang terendah dimiliki oleh *cell line* SKBR3 yang kontrol (tanpa perlakuan). Hal ini sesuai dengan subtype sel ini yang memiliki reseptor HER2+, dimana sel ini tidak membutuhkan ligan untuk berproliferasi, sehingga saat sel ini berekspresi juga langsung aktif. Sel SKBR3 merupakan sel dengan proliferasi yang cepat, sehingga butuh c-Fos yang tinggi untuk proliferasi karena merupakan protein intranukleus. Jadi saat sel ini diinduksi dengan ATP, EGF ataupun kombinasi ATP+EGF, mengalami peningkatan pada jumlah intensitas ekspresi protein c-Fos. Hasil penelitian ini didukung dengan penelitian sebelumnya oleh Garcia (2000) *et.al* yaitu tentang efek pemberian estradiol pada ekspresi c-Fos dan c-Jun dalam sel lemak dari tikus yang diovariektomi yaitu estradiol menghasilkan peningkatan cepat c-Fos dan c-Jun mRNA dan kadar protein (sekitar 2 kali lipat).[55] Penelitian lain oleh Partridge (1996) *et.al*. menyebutkan bahwa hormon paratiroid menginduksi aktivitas c-fos dalam sel osteoblastik melalui fosforilasi protein pengikat CAMP response element (CRE) dengan mengikat ke CRE utama.[56]

Intensitas Ekspresi Protein c-Fos pada *Cell Line* HaCat

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan terkait ekspresi c-Fos berbagai dosis induksi ATP 100µM, EGF 50 ng/mL, dan gabungan ATP+EGF terhadap *cell line* HaCat secara in vitro, didapatkan hasil ekspresi c-Fos meningkat setelah diberikan induksi ATP , EGF dan gabungan ATP+EGF seperti pada **gambar 3**.



Gambar 3. Diagram intensitas ekspresi protein c-Fos *cell line* HaCat setelah diberiperlakuan ATP, EGF dan gabungan ATP+EGF

Untuk mengetahui hubungan antara masing-masing perlakuan dalam mempengaruhi intensitas ekspresi c-Fos dengan uji *oneway anova* yang sebelumnya sudah dilakukan uji normalitas dengan data terdistribusi normal, didapatkan hasil bahwa tidak terdapatnya perbedaan bermakna antara intensitas ekspresi c-Fos pada semua kelompok dosis dengan nilai *p* adalah 0.773 ($p > 0.05$) **(Tabel 3).**

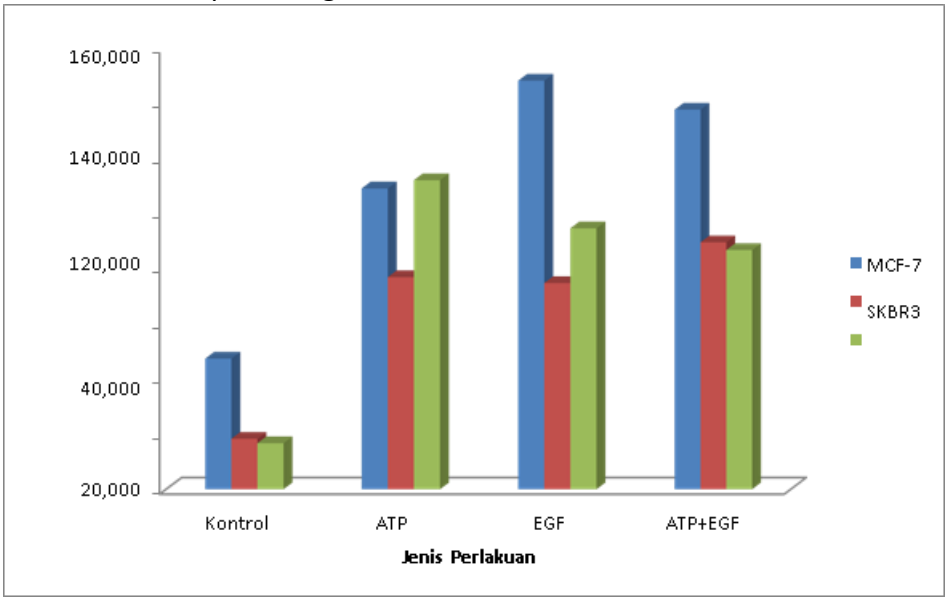
Tabel 3. Pengaruh jenis perlakuan ATP, EGF dan gabungan ATP+EGF terhadap intensitas ekspresic-Fos *cell line* HaCat

	Mean Rank	SD	Nilai *p*
ATP	90.758	27.975	0,773(>0,05)
EGF	78.468	14.140	
ATP+EGF	85.082	16.903	

Dari hasil penelitian tampak bahwa *cell line* HaCat pada masa inkubasi 45 menit yang diberi perlakuan ATP dengan dosis 100µM memiliki intensitas ekspresi c-Fos yang tertinggi, sedangkan intensitas ekspresi c-Fos yang terendah dimiliki oleh *cell line* HaCat yang kontrol (tanpa perlakuan). Hal ini sesuai dengan kondisi fisiologis dan patofisiologis, keratinosit melepaskan adenosin trifosfat (ATP) sebagai mediator autokrin/parakrin yang mengatur proliferasi, diferensiasi, dan migrasi sel sehingga saat di induksi dengan ATP, intensitas sel HaCat meningkat.[39] Penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Valerie *et.al* bahwa ekspresi protein c-Fos dapat menginduksi penghambatan pertumbuhan *cell line* HaCat dan meningkatkan sensitivitas keratinosit terhadap apoptosis.[59] Penelitian lainnya oleh Yiru *et.al* EGFR diperlukan untuk induksi jalur pensinyalan ganda yang dimediasi oleh UVB yang diketahui memediasi pembentukan tumor di kulit, UVB menginduksi protein c-Fos dan c-Jun dalam sel B82K+.[60] Sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian ATP dan EGF berpengaruh pada *cell line* HaCat.

Perbedaan Intensitas Ekspresi c-Fos pada *Cell Line* MCF-7, SKBR3 dan HaCat

Perbedaan intensitas protein c-Fos pada ketiga jenis cell line dapat dilihat pada **gambar 4**



Gambar 4. Perbedaan intensitas ekspresi protein c-Fos *cell line* MCF-7, SKBR3, dan HaCat setelah diberi perlakuan ATP, EGF dan gabungan ATP+EGF.

untuk melihat pola dari hasil intensitas c-Fos terhadap jenis perlakuan yang telah diberikan, didapatkan hasil bahwa perbedaan perlakuan menghasilkan intensitas protein c-Fos yang berbeda pula. *Cell line* MCF-7 yang telah diinduksi EGF memiliki intensitas tertinggi, yaitu sebesar 148.180 *intensity unit*, sedangkan *cell line* SKBR3 yang diberi perlakuan EGF memiliki konsentrasi terendah, yaitu 74.948 *intensity unit*. Nilai masing-masing intensitas dan standar deviasi ketiga *cell line* disajikan dalam **Tabel 4.**

Tabel 4. Nilai intensitas dan standar deviasi dari *cell line* MCF-7, SKBR3 dan HaCat setelah diberi perlakuan ATP, EGF dan gabungan ATP+EGF.

	ATP	EGF	ATP+EGF
MCF-7	109192±10795	148180±14102	137707±20754
SKBR3	77078±23089	74948±16104	89685±15113
HaCat	112170±13972	94762±25483	86890±22025

Dari analisis data *oneway anova* didapatkan hasil bahwa tidak terdapatnya perbedaan yang bermakna antara intensitas ekspresi c-Fos pada semua kelompok jenis *cell line* yang diberi perlakuan dengan nilai $p > 0,05$.

SIMPULAN

Intensitas ekspresi protein c-Fos pada *cell line* MCF-7, SKBR3 kanker payudara pada pemberian perlakuan ATP, EGF dan kombinasi keduanya mengalami peningkatan namun tidak terdapat perbedaan bermakna secara statistik.

DUKUNGAN FINANSIAL

Pendanaan dari PNBP Tahun 2021.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kepada Dr. dr. Afriwardi, Sp.KO, SH, MA selaku Dekan beserta Wakil Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Andalas. Prof. Dr. dr. Aisyah Elliyanti, Sp.KN-TM(K), M.Kes yang sudah memberikan kesempatan untuk bergabung penelitian sepayung dengan beliau. Dr. dr. Noza Hilbertina, M.Biomed, Sp.PA(K), Dr. dr. Henny Mulyani, Sp.PA, M.Biomed, Prof. Dr. dr. Wirsma Arif Harahap, Sp.B(K)-Onk, dan dr. Fathiya Juwita Hanum, Sp.Onk-Rad yang telah memberikan arahan dan evaluasi dalam penelitian serta segala pihak yang telah membantu penulis selama penelitian.

KONFLIK KEPENTINGAN

Penelitian ini telah dilakukan sesuai dengan prosedur yang ada, namun tentu masih terdapat keterbatasan penelitian. Adapun keterbatasan penelitian ini adalah menggunakan pengukuran imunofluoresens secara konvensional dengan metode semikuantitatif menggunakan aplikasi ImageJ untuk menghitung intensitas ekspresi protein c-Fos sehingga kemungkinan terjadinya bias masih bisa terjadi.

Penelitian ini juga menggunakan tipe *cell line* normal tetapi bukan dari sel payudara, untuk itu perlu penelitian yang menggunakan sel normal payudara sebagai pembandingnya.

DAFTAR PUSTAKA

1. Warner E. Breast-Cancer Screening. N Eng J Med. 2011;365:1025–32.
2. Qodria L, Nurrachma MY. Pemilihan Sel yang Tepat Untuk Penelitian Kanker Payudara. BioTrends. 2020;11(2):17–28.
3. GLOBOCAN. The Global Cancer Observatory - All cancers. Int Agency Res Cancer - WHO. 2020;419:199–200.
4. The Global Cancer Observatory. Cancer Incident in Indonesia. Int Agency Res Cancer. 2020;858:1–2.
5. Warjianto W, Soewoto W, Alifianto U, Wujoso H. Hubungan Reseptor Estrogen, Reseptor Progesteron dan Ekspresi Her-2/Neu Dengan Grading Histopatologi pada Pasien Kanker Payudara di RSUD dr. Moewardi Surakarta. Smart Med J. 2020;3(2):96.
6. Arnetha TS, Hernowo BS, Adha MJ, Rezano A. Relationship between Molecular Subtypes and Overall Survival of Breast Cancer in Bandung. Biomed Pharmacol J. 2020;13(3):1543–8.
7. Ramaswamy MZ and B. Mechanisms and therapeutic advances in the management of endocrine-resistant breast cancer. World J Clin Oncol. 2014;5(3):248–62.
8. Elliyanti A. Peran C-Fos Sebagai Agen Proliferasi Dan Pro-Apoptosis Sebagai Strategi Pengembangan Pengobatan Kanker. Maj Kedokt Andalas. 2016;39(2):73.
9. Mahner S, Baasch C, Schwarz J, Hein S, Wölber L, Jänicke F, et al. C-Fos expression is a molecular predictor of progression and survival in epithelial ovarian carcinoma. Br J Cancer. 2008;99(8):1269–75.
10. Nakakuki T, Birtwistle MR, Saeki Y, Yumoto N, Ide K, Nagashima T, et al. Ligand-specific c-fos expression emerges from the spatiotemporal control of ErbB network dynamics. Cell. 2010;141(5):884–96.
11. Mikula M, Gotzmann J, Fischer ANM, Wolschek MF, Thallinger C, Schulte-Hermann R, et al. The proto-oncoprotein c-Fos negatively regulates hepatocellular tumorigenesis. Oncogene. 2003;22(42 REV. ISS. 4):6725–38.
12. Seon Pil Jin, Ji Hun Kim, Min A Kim, Han-Kwang Yang, Hee Eun Lee HSL& WHK. Prognostic significance of loss of c-fos protein in gastric carcinoma. Pathol Oncol Res. 2007;13:284–89.
13. Elliyanti A et al. Correlation Between Natrium Iodide Symporter and c-Fos Expression in Breast Cancer Cell Line Advances in Biomolecular Medicine. CRC Press. 2017;19–22.
14. Breast cancer [Internet]. Cancer Research UK. [cited 2022 Apr 23]. Available from: https://www.cancerresearchuk.org/about-cancer/breast-cancer
15. Ferguson FMAT. Breast Cancer. ncbi. 2021;70(8):515–7.
16. Watkins E. Overview of breast cancer. J Am Acad Physician Assist. 2019;32(10):13–7.
17. Indonesia Departemen Kesehatan Republik. Riset Kesehatan Dasar 2018. 2019.
18. Hasnita Y, Harahap WA, Defrin. Penelitian Pengaruh Faktor Risiko Hormonal pada Pasien Kanker Payudara di RSUP. Dr. M. Djamil Padang. J Kesehat Andalas. 2019;8(3):522–8.
19. Putu Nita Cahyawati. Imunoterapi pada Kanker Payudara. WICAKSANA. 2018;2(1).
20. Breast cancer symptoms [Internet]. Cancer Research UK. [cited 2022 Apr 24]. Available from: https://www.cancerresearchuk.org/about-cancer/breast-cancer/symptoms
21. Indonesia KMKR. Pedoman Nasional Pelayanan Kedokteran Tata Laksana Kanker Payudara. 2018;2(2):2016.
22. Tests to stage breast cancer [Internet]. Cancer Research UK. [cited 2022 Apr

24]. Available from: https://www.cancerresearchuk.org/about-cancer/breast-cancer/getting-diagnosed/tests-stage
23. Sari SE, Harahap WA, Saputra D. Pengaruh Faktor Risiko Terhadap Ekspresi Reseptor Estrogen Pada Penderita Kanker Payudara Di Kota Padang. J Kesehat Andalas. 2018;7(4):461.
24. Tsang JYS, Tse GM. Molecular Classification of Breast Cancer. Adv Anat Pathol. 2020;27(1):27–35.
25. Torsten O Nielsen, Samuel C. Y Leung, David L Rimm AD et al. Assessment of Ki67 in Breast Cancer: Updated Recommendations From the International Ki67 in Breast Cancer Working Group. J Natl Cancer Inst. 2021;113(7):808–19.
26. Feng Y, Spezia M, Huang S, Yuan C, Zeng Z, Zhang L, et al. Breast cancer development and progression: Risk factors, cancer stem cells, signaling pathways, genomics, and molecular pathogenesis. Genes Dis. 2018;5(2):77–106.
27. Treatment for Breast Cancer [Internet]. Cancer Research UK. [cited 2022 Apr 24]. Available from: https://www.cancerresearchuk.org/about-cancer/breast-cancer/treatment/treatment-decisions
28. Collins Dictionary of Medicine [Internet]. HarperCollins Publishers. 2014 [cited 2022 Apr 12]. Available from: https://www.thefreedictionary.com/cell line
29. Smith1† SE, Mellor1† P, Ward1† AK, Kendall1† S, McDonald2 M, Vizeacoumar1 FS, et al. Molecular characterization of breast cancer cell lines through multiple omic approaches. Breast Cancer Res. 2017;19(65).
30. Dai X, Cheng H, Bai Z, Li J. Breast cancer cell line classification and Its relevance with breast tumor subtyping. J Cancer. 2017;8(16):3131–41.
31. Ayu MS. Uji Sitotoksitas dan Proliferasi Senyawa 1-(2-Klorobenzoiloksimetil)-5-Fluorourasil terhadap Sel kanker Payudara (sel MCF-7). 2015.
32. Comsa S, Maria A MR. The Story of MCF-7 Breast Cancer Cell Line: 40 years of Experience in Research. Anticancer Res. 2015;35(6):3147–54.
33. MCF-7 [Internet]. ATCC (American Tissue Culture Collection). [cited 2022 Apr 23]. Available from: https://www.atcc.org/products/htb-22
34. SKBR3 [Internet]. ATCC (American Tissue Culture Collection). [cited 2022 Apr 23]. Available from: https://www.atcc.org/products/htb-30
35. SKBR-3: Human Breast Cancer Cell Line (ATCC HTB-30) [Internet]. Memorial Sloan Kettering Cancer Center. 2022 [cited 2022 Apr 22]. Available from: https://www.mskcc.org/research-advantage/support/technology/tangible-material/human-breast-cell-line-sk-br-3
36. MDA-MB-231 Cell line profile. ECACC, Eur Collect Authenticated Cell Cult. 2022;4(92020424):1–2.
37. MDAMB231 [Internet]. ATCC (American Tissue Culture Collection). [cited 2022 Apr 23]. Available from: https://www.atcc.org/products/htb-26
38. Wilson AFD& VG. In vitro culture conditions to study keratinocyte differentiation using the HaCaT cell line. Cytotechnology. 2007;54(1):77–83.
39. Chia-Lin Ho, Chih-Yung Yang, Wen-Jie Lin C-HL. Ecto-Nucleoside Triphosphate Diphosphohydrolase 2 Modulates Local ATP-Induced Calcium Signaling in Human HaCaT Keratinocytes. Plosone. 2013;1371.
40. Accepted MCB, Posted M, Society A, Reserved AR. Evidence for

Homodimerization of the c-Fos Transcription Factor in Live Cells Revealed by Fluorescence Microscopy and Computer Modeling. Mol Cell Biol. 2015;35(21):3785–98.
41. Mahner S, Baasch C, Schwarz J, Hein S, Wölber L, Jänicke F, et al. C-fos Expression is Molecular Predictor Progression. BJC. 2008. p. 1269–75.
42. UniProtKB - P01100 (FOS_HUMAN) [Internet]. UniProt. [cited 2022 Apr 24]. Available from: https://www.uniprot.org/uniprot/P01100
43. Bao-Sheng Chen, Ming-Rong Wang, Yan Cai, Xin Xu, Zhi-Xiong Xu, Ya-Ling Han MW. Decreased expression of SPRR3 in Chinese human oesophageal cancer. Carcinogenesis. 2000;21(12):2147–50.
44. Wagstaff SC, Bowler WB, Gallagher JA, Hipskind RA. Extracellular ATP activates multiple signalling pathways and potentiates growth factor-induced c-fos gene expression in MCF-7 breast cancer cells. Carcinogenesis. 2000;21(12):2175–81.
45. Pacheco-pantoja EL, Dillon JP, Wilson PJM, Fraser WD, Gallagher JA. c-Fos induction by gut hormones and extracellular ATP in osteoblastic-like cell lines. Purinergic Signal. 2016;7–11.
46. Elliyanti A, Putra AE, Sribudiani Y, Noormartany N, Masjhur JS, Achmad TH, et al. Epidermal growth factor and adenosine triphosphate induce natrium iodide symporter expression in breast cancer cell lines. Open Access Maced J Med Sci. 2019;7(13):2088–92.
47. Publications S. Immunofluorescence Assays. ibidi. 2019;10(1038):419–67.
48. Odell ID, Cook D. Immunofluorescence Techniques. J Invest Dermatol. 2013;133(1):1–4.
49. Farhana. MAA. Enzyme Linked Immunosorbent Assay. ncbi. 2022;657–82.
50. Santosa B. Teknik Elisa. Semarang: Unimus Press; 2020. 36 p.
51. Syennie Sari Agung, Iman Permana Maksum TS. Serum Otologus dan human Epidermal Growth Factor (hEGF) Mempercepat Proliferasi dan Migrasi Keratinosit pada Proses Re-Epitelisasi. MKB. 2016;48(4).
52. Abcam. ab264626 Human c-Fos SimpleStep ELISA kit. In: Abcam. 2021. p. 24.
53. Elliyanti A, Wikayani TP, Masjhur JS, Achmad TH. Deteksi Natrium / Iodide Symporter (NIS) pada Galur Sel Kanker Payudara SKBR3 dengan Imunositofluoresens Detection of Natrium / Iodide Symporter (NIS) in SKBR-3 Breast Cancer Cell Line Using Immunocytofluoresence. 2014;48(1):15–8.
54. Jimeno A, Kulesza P, Kincaid E, Bouaroud N, Chan A, Forastiere A et al. Cfos Assesment as A Marker of Anti-epidermal Growth Factor Receptor Effect. Cancer Res. 2006;(66):2385–90.
55. E Garcia, D Lacasa YG. Estradiol stimulation of c-fos and c-jun expressions and activator protein-1 deoxyribonucleic acid binding activity in rat white adipocyte. Endocrinology. 2000;141(8):2837–46.
56. C.Partridge AT-YDBRP. Parathyroid Hormone Induces c-fos Promoter Activity in Osteoblastic Cells through Phosphorylated cAMP Response Element (CRE)-binding protein Binding to the Major CRE. J Biol Chem. 1996;271(41):25715–21.
57. Budiarto BR. Polymerase Chain Reaction (PCR) : Perkembangan Dan Perannya Dalam Diagnostik Kesehatan. BioTrends. 2015;6(2):29–38
58. Rezgar Rahbari, Nariman Moradi and MA. rRT-PCR for SARS-CoV-2: Analytical considerations. Clin Chim Acta. 2021;1(516):1–7.
59. Mils Â, Piette J, Barette C, Veyrune J, Tesnie A, Escot C, et al. The proto-oncogene c-fos increases the sensitivity of keratinocytes to

apoptosis The proto-oncogene c- fos increases the sensitivity of keratinocytes to apoptosis. 1997;(May).

60. Xu Y, Voorhees JJ, Fisher GJ. Epidermal Growth Factor Receptor Is a Critical Mediator of Ultraviolet B Irradiation-Induced Signal Transduction in Immortalized Human Keratinocyte HaCaT Cells. Am J Pathol. 2006;169(3):823–30.
61. Jennifer L. Hsu, Mien-Chie Hung. The role of HER2, EGFR, and other receptor tyrosine kinases in breast cancer. Cancer Metastasis Rev. 2016;35(4)575-88.