



PENGARUH EFEK EKSTRAK KAYU BAJAKAH MERAH (*SPHATOLOBUS LITTORALIS*) TERHADAP KADAR PROTEIN MTOR PADA SEL KANKER PAYUDARA MCF-7

Ratu Salia Siskowati¹, ✉ Harliansyah², Nunung Ainur Rahmah³, Ahmad Randy⁴, Pendrianto⁵

^{1,2,3,4,5}, Program Studi Kedokteran Umum, Universitas YARSI

ratusalia123@gmail.com¹, harliansyah.hanif@yarsi.ac.id², nunung.ainur@yarsi.ac.id³,

ahmad.randy@brin.go.id⁴, pendrianto@gmail.com⁵

Abstrak

Salah satu penyakit yang paling umum terjadi pada wanita adalah kanker payudara, yang terkait dengan pembelahan sel yang tidak terkendali melalui jalur sinyal mTORC. Studi ini bertujuan untuk menentukan bagaimana ekstrak Kayu Bajakah Merah (*Spatholobus littoralis*) mempengaruhi ekspresi protein mTORC secara in vitro pada sel kanker payudara MCF-7. Penelitian menggunakan desain true experimental dengan post-test only control group, melibatkan enam kelompok perlakuan, termasuk kontrol negatif, kontrol positif (Tamoxifen), dan perlakuan ekstrak Bajakah Merah pada konsentrasi IC_{50} 72 jam. Sel dikultur, diolah, dan viabilitas sel diukur menggunakan CCK-8 untuk menentukan IC_{50} , sedangkan kadar protein mTORC dianalisis menggunakan ELISA. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak Bajakah Merah menurunkan viabilitas sel secara dosis- dan waktu-dependen, dengan IC_{50} terendah pada inkubasi 72 jam. Kadar mTORC meningkat signifikan pada kelompok perlakuan ekstrak dibanding kontrol negatif, menunjukkan pengaruh ekstrak terhadap jalur pensinyalan mTORC. Meskipun efek sitotoksik masih lebih rendah dibanding Tamoxifen, ekstrak kayu Bajakah Merah memiliki potensi sebagai agen kemopreventif berbasis bahan alam..

Kata Kunci: kanker payudara, MCF-7, ekstrak kayu Bajakah Merah, mTORC, sitotoksik, kemoprevensi.

Abstract

One of the most prevalent diseases in women is breast cancer, which is linked to unchecked cell division via the mTORC signaling pathway. This study sought to determine how Red Bajakah Wood (*Spatholobus littoralis*) extract affected the in vitro expression of the mTORC protein in MCF-7 breast cancer cells. A true experimental design with post-test only control group was employed, including six treatment groups: negative control, positive control (Tamoxifen), and Red Bajakah Wood extract at IC_{50} 72-hour concentration. Cells were cultured, treated, and viability assessed using CCK-8 to determine IC_{50} , while mTORC protein levels were measured via ELISA. Results showed that Red Bajakah Wood extract reduced cell viability in a dose- and time-dependent manner, with the lowest IC_{50} at 72 hours incubation. mTORC levels increased significantly in extract-treated cells compared to negative control, indicating the extract's effect on the mTORC signaling pathway. Although its cytotoxicity was lower than Tamoxifen, Red Bajakah Wood extract demonstrated potential as a natural-based chemopreventive agent..

Keywords: breast cancer, MCF-7, Red Bajakah Wood extract, mTORC, cytotoxicity, chemoprevention.

* Corresponding author : Harliansyah

Address : Alamat Penulis

Email : harliansyah.hanif@yarsi.ac.id

PENDAHULUAN

Kanker merupakan kondisi pertumbuhan sel-sel tubuh yang tidak terkendali dan menyimpang dari mekanisme normal. Kanker payudara sendiri didefinisikan sebagai sekumpulan penyakit yang berasal dari jaringan payudara dan bersifat heterogen, baik secara biologis maupun molekuler (Feng et al., 2018; Pratama and Nuwarda, 2018). Kanker payudara menyumbang hampir satu dari empat kasus kanker dan satu dari enam kematian akibat kanker pada wanita di seluruh dunia. Berdasarkan data dari GLOBOCAN (*Global Burden of Cancer*) tahun 2022, ditemukan bahwa terdapat 2,3 juta kasus kanker payudara dan kematian yang mencapai 665.684 di seluruh dunia (Bray et al., 2024).

“Di Indonesia, kanker payudara merupakan jenis kanker yang paling umum di kalangan wanita dan salah satu penyebab utama kematian akibat kanker pada populasi ini. Menurut data dari Kemenkes pada tahun 2022, diperkirakan akan ada 66.000 kasus kanker payudara di Indonesia pada tahun 2024, dari total 201.000 kasus (41,8 per 100.000 penduduk). Sementara itu, akan ada 14,4 kematian akibat kanker payudara per 100.000 penduduk (Kemenkes, 2024).”

Berbagai penelitian menunjukkan bahwa perkembangan kanker pada manusia atau tumorigenesis memerlukan beberapa kemampuan biologis yaitu, mempertahankan sinyal proliferasi, menghindari hambatan pertumbuhan, menghambat kematian sel, replikasi terus-menerus, menginduksi pembentukan pembuluh darah baru (*angiogenesis*), serta mengaktifkan invasi dan metastasis. Proses tumorigenesis dapat dibagi menjadi tiga tahap penting: inisiasi, promosi, dan progresi, yang terjadi pada berbagai jenis kanker manusia, termasuk pada sel kanker MCF-7. Proses tersebut dapat dipicu oleh ROS (*Reactive Oxygen Species*), Inflamasi, dan genetik (Pan et al., 2013; Feng et al., 2018).

Dalam perkembangannya, kanker dipengaruhi oleh beberapa protein, salah satunya adalah protein mechanistic target of rapamycin complex (mTORC). Jalur mTORC terdiri dari dua kompleks utama, yaitu mTORC1 dan mTORC2, yang memiliki fungsi berbeda dalam regulasi sel. Aktivasi mTORC1 dikaitkan dengan peningkatan sintesis protein dan proliferasi sel, sementara mTORC2 berperan dalam pengaturan sitoskeleton dan kelangsungan hidup sel. Dalam konteks kanker, aktivasi berlebih pada mTORC1 dapat menyebabkan proliferasi sel kanker yang tidak terkendali dan resistensi terhadap apoptosis (Kim et al., 2019; Zou et al., 2020). Kanker dapat dihambat atau ditunda dengan melakukan kanker kemoprevensi. Kanker kemoprevensi merupakan pencegahan proses perkembangan karsinogenik dan/atau membalikkan proses karsinogenik menjadi kanker invasif dengan pemberian zat alami atau sintesis salah satunya adalah kayu bajakah (Balata et al., 2019).

Dalam beberapa penelitian, ekstrak kayu bajakah diteliti memiliki efek antikanker karena mengandung metabolit sekunder seperti, alkaloid, flavonoid, dan terpenoid yang dapat memicu apoptosis dari sel kanker (Balata et al., 2019; Ridho, 2023).

Alkaloid dapat memicu peningkatan sinyal p53 yang secara tidak langsung mengaktifkan jalur mTOR sehingga, mempengaruhi p-Bcl-2 dan meningkatkan apoptosis sel kanker (Ridho, 2023). Flavonoid dapat meningkatkan apoptosis dengan mengaktifkan protein Bax dan Bak sebagai regulator protein pro-apoptotik (Pan et al., 2013; Qin et al., 2021; Ridho, 2023).

Triterpen ursan merangsang mekanisme untuk mencegah proliferasi sel kanker dan memicu apoptosis dengan meningkatkan ekspresi Bax dan menurunkan Bcl-2 (Ridho, 2023). Pentingnya jalur sinyal mTORC sebagai mekanisme utama yang merangsang peningkatan pertumbuhan tumor terhadap sel MCF-7 serta berperan pada apoptosis, autofagi, dan metabolisme sel tumor (Kim et al., 2019; Zou et al., 2020), menjadi alasan penelitian mengenai pengaruh dari ekstrak kayu bajakah merah terhadap ekspresi protein mTORC pada sel MCF 7 ini dilaksanakan.

METODE

Desain, Rancangan, dan Sampel Penelitian

Penelitian ini merupakan *true experimental* dengan pendekatan *in vitro* yang bertujuan menguji efek ekstrak kayu bajakah merah terhadap ekspresi protein mTORC pada sel kanker payudara MCF-7. Rancangan yang digunakan adalah post-test only *control group design*, dengan pengukuran ekspresi mTORC menggunakan metode ELISA. Sel MCF-7 diperoleh dari Pusat Penelitian Kultur Sel Universitas YARSI, ditanam pada 96-well plate dengan kepadatan 10.000 sel/ml. Subjek penelitian dibagi ke dalam enam kelompok, meliputi kelompok blanko, kontrol negatif, kontrol positif (tamoxifen), dan kelompok perlakuan ekstrak kayu bajakah merah pada konsentrasi IC50 selama 72 jam, dengan masing-masing kelompok dilakukan replikasi triplo untuk meningkatkan validitas dan reliabilitas data.

Populasi penelitian berupa sel kanker payudara MCF-7, dengan sampel dipilih berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi menggunakan *judgemental sampling*, kemudian dialokasikan secara acak ke dalam kelompok perlakuan. Total sumuran yang digunakan berjumlah 18 sumuran, disesuaikan dengan jumlah kelompok dan replikasi. Data yang dikumpulkan merupakan data primer, meliputi nilai IC50 ekstrak kayu bajakah merah terhadap pertumbuhan sel MCF-7 serta kadar protein mTORC yang diukur secara kolorimetri, guna

mendukung analisis statistik dan kekuatan uji penelitian.

Pengumpulan dan pengukuran data

Pengumpulan dan pengukuran data diawali dengan kultur sel kanker payudara MCF-7 melalui tahapan thawing, seeding, kultur–subkultur, serta panen dan penghitungan viabilitas sel. Sel dikultur dalam medium DMEM pada suhu 37°C dengan 5% CO₂, dilakukan subkultur menggunakan tripsin, dan dipanen melalui sentrifugasi. Viabilitas serta jumlah sel dihitung secara manual menggunakan hemositometer dengan metode Trypan Blue Exclusion Assay untuk memastikan sel yang digunakan masih hidup dan sesuai dengan kebutuhan penelitian.

Ekstrak kayu bajakah merah dibuat dengan metode maserasi menggunakan etanol 96% dari serbuk batang bajakah merah, kemudian diuapkan hingga diperoleh ekstrak pekat. Ekstrak dilarutkan dalam DMSO untuk memperoleh larutan stok dan diencerkan hingga konsentrasi IC₅₀. Uji sitotoksik dilakukan untuk menentukan nilai IC₅₀ ekstrak bajakah merah dan tamoxifen terhadap sel MCF-7 pada waktu inkubasi 24, 48, dan 72 jam menggunakan metode Cell Counting Kit-8 (CCK-8).

Tabel 1. Seri Konsentrasi Ekstrak Kayu Bajakah Merah

Konsentrasi Ekstrak Kayu Bajakah	Stok Ekstrak Kayu Bajakah (uL)	DMEM (uL)
25	1,55	618,45
50	3,1	616,9
75	4,65	615,35
100	6,2	613,8
125	7,75	612,25
150	9,30	610,70
175	10,85	609,15
200	12,4	607,6
225	13,95	606,05

Selanjutnya, sel yang telah diberi perlakuan dipanen untuk proses isolasi protein menggunakan RIPA buffer yang dilengkapi protease dan phosphatase inhibitor. Protein total yang diperoleh dianalisis untuk mengukur kadar protein mTORC menggunakan metode kolorimetri berbasis ELISA sesuai protokol kit mTOR, sehingga diperoleh data primer berupa kadar mTORC sebagai indikator respons sel terhadap perlakuan ekstrak kayu bajakah merah.

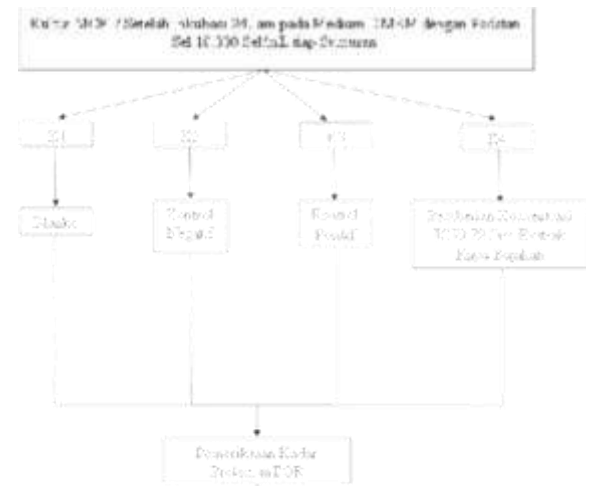
Instrument Penelitian

Instrumen pengumpulan data dalam penelitian ini meliputi berbagai peralatan laboratorium untuk kultur sel, preparasi ekstrak, dan analisis protein, antara lain spektrofotometer Tecan Infinite M200Pro, sentrifus Eppendorf, biosafety cabinet, rotary evaporator, berbagai jenis mikropipet, inverted microscope, hemositometer,

autoklaf, serta peralatan pendukung lainnya. Bahan yang digunakan mencakup ekstrak kayu bajakah merah, sel kanker payudara MCF-7, medium DMEM dengan FBS, trypan blue, etanol 96%, DMSO, RIPA buffer, reagen protein, serta kit ELISA mTOR, yang seluruhnya digunakan untuk mendukung proses kultur sel, uji sitotoksik, isolasi protein, dan pengukuran kadar protein mTORC.

Analisis Data

Data penelitian diperoleh dari hasil pengukuran kadar protein mTORC pada sel MCF-7 yang telah diberi perlakuan sesuai kelompok, dengan setiap kelompok dilakukan replikasi tiga kali (triplo). Data hasil pengukuran dianalisis secara deskriptif untuk memperoleh nilai rerata dan simpangan baku kadar protein mTORC, kemudian dianalisis secara komparatif menggunakan perangkat lunak SPSS. Sebelum analisis komparatif, dilakukan uji normalitas menggunakan uji Shapiro–Wilk atau Kolmogorov–Smirnov sesuai jumlah sampel, serta uji homogenitas varians dengan uji Levene; selanjutnya, perbandingan antar kelompok dilakukan menggunakan uji ANOVA satu arah apabila asumsi terpenuhi, atau uji Kruskal–Wallis apabila data tidak berdistribusi normal atau tidak homogen.



Gambar 1. Alur Penelitian

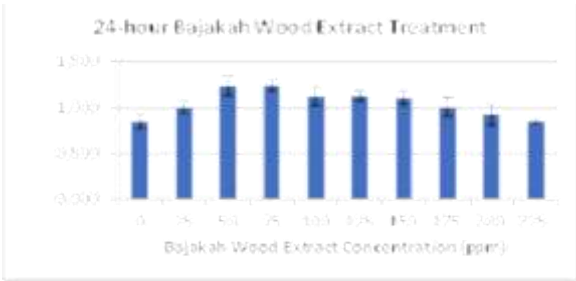
HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji sitotoksik

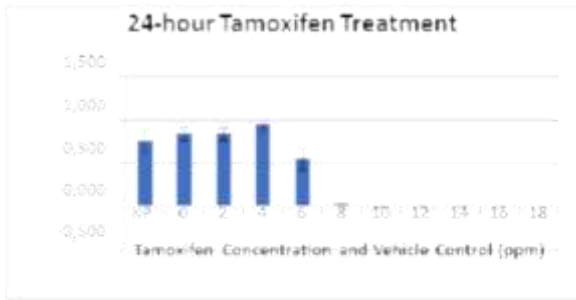
Uji sitotoksik dilakukan untuk menilai potensi ekstrak kayu Bajakah Merah (*Spatholobus littoralis*) dan Tamoxifen dalam menghambat viabilitas sel kanker payudara MCF-7 yang dinyatakan melalui nilai IC₅₀, yaitu konsentrasi senyawa yang mampu menurunkan viabilitas sel sebesar 50% dibandingkan kontrol negatif. Penentuan IC₅₀ dilakukan menggunakan metode Cell Counting Kit-8 (CCK-8) pada waktu inkubasi 24, 48, dan 72 jam, dengan sel MCF-7 tanpa perlakuan sebagai kontrol negatif. Ekstrak Bajakah Merah diuji pada rentang konsentrasi 0–225 ppm dan Tamoxifen pada 0–18 ppm, masing-masing dengan tiga kali ulangan, kemudian nilai absorbansi

dikonversi menjadi persentase viabilitas sel untuk penyusunan kurva dosis-respon.

Hasil Pengukuran *Optical Density* (OD) Metode CCK-8



Gambar 2. Kurva Dosis Kayu Bajakah waktu inkubasi 24 jam

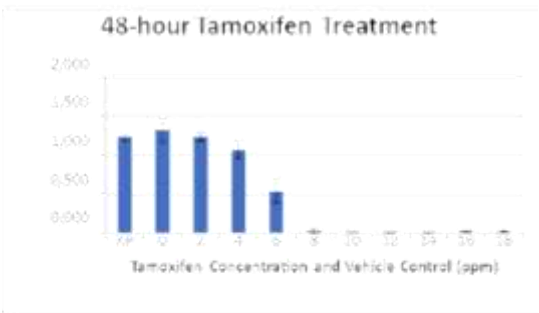


Gambar 3. Kurva Dosis Tamoxifen waktu inkubasi 24 jam

Berdasarkan Gambar 2 dan 3, pada inkubasi 24 jam, ekstrak kayu Bajakah Merah menunjukkan penurunan nilai OD yang bertahap seiring peningkatan konsentrasi, namun efek sitotoksiknya masih moderat. Sementara itu, Tamoxifen memperlihatkan penurunan nilai OD yang lebih jelas dibandingkan ekstrak, meskipun pada konsentrasi rendah sebagian sel MCF-7 masih menunjukkan aktivitas metabolik yang relatif tinggi.



Gambar 4. Kurva Dosis Kayu Bajakah waktu inkubasi 48 jam

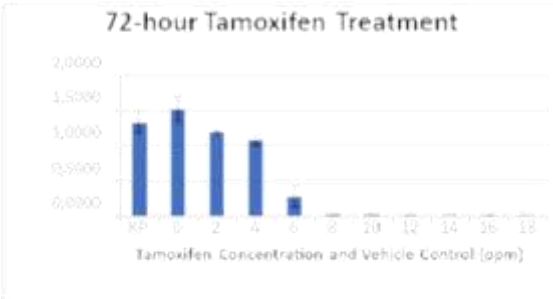


Gambar 5. Kurva Dosis Tamoxifen waktu inkubasi 48 jam

Berdasarkan Gambar 4 dan 5, pada inkubasi 48 jam, ekstrak kayu Bajakah Merah menunjukkan penurunan nilai OD yang lebih jelas dibandingkan 24 jam, terutama pada konsentrasi menengah hingga tinggi, menandakan peningkatan efek sitotoksik seiring lamanya paparan. Perlakuan Tamoxifen juga memperlihatkan penurunan OD yang tajam pada hampir seluruh konsentrasi. Secara umum, baik ekstrak kayu Bajakah Merah maupun Tamoxifen menunjukkan penurunan nilai OD seiring peningkatan konsentrasi dan waktu inkubasi pada sel MCF-7.



Gambar 6. Kurva Dosis Kayu Bajakah waktu inkubasi 72 jam



Gambar 7. Kurva Dosis Tamoxifen waktu inkubasi 72 jam

Gambar 6 dan 7, pada waktu inkubasi 72 jam, perlakuan ekstrak kayu Bajakah Merah menunjukkan penurunan nilai OD yang paling signifikan dibandingkan inkubasi 24 dan 48 jam. Nilai OD menurun secara konsisten seiring peningkatan konsentrasi, yang menunjukkan bahwa efek sitotoksik ekstrak mencapai kondisi yang lebih optimal setelah paparan yang lebih lama. Perlakuan Tamoxifen pada inkubasi 72 jam memperlihatkan penurunan nilai OD yang sangat tajam, bahkan pada konsentrasi rendah. Nilai OD yang sangat rendah mencerminkan berkurangnya aktivitas metabolik sel secara drastis yang menandakan potensi sitotoksik Tamoxifen yang sangat kuat terhadap sel kanker payudara MCF-7.



a. Kontrol Negatif selama 48 jam



b. Kontrol pelarut selama 48 jam



Perbandingan gambaran morfologi sel MCF-7 pada masing-masing perlakuan. Gambar a dan b menunjukkan morfologi sel MCF-7 yang relatif normal dan adheren baik pada kontrol negatif (0 ppm) dan kontrol pelarut DMSO 0,09% setelah 48 jam, menandakan tidak adanya efek sitotoksik bermakna. Gambar c dan d memperlihatkan penurunan kepadatan sel serta perubahan morfologi berupa sel membulat dan debris sel setelah perlakuan ekstrak kayu bajakah 125 ppm dan tamoxifen 4 ppm setelah 48 jam, dengan efek sitotoksik lebih nyata pada kelompok tamoxifen

Tabel 2. Nilai OD (Viabilitas %) Konsentrasi Ekstrak Kayu Bajakah Berdasarkan Waktu Inkubasi

Konsentrasi Ekstrak Kayu Bajakan (ppm)	Adjusted Mean OD (Viabilitas %) Perlakuan 24 Jam	Adjusted Mean OD (Viabilitas %) Perlakuan 48 jam	Adjusted Mean OD (Viabilitas %) Perlakuan 72 jam
0	0,842 (100)	1,304 (100)	1,5265 (100)
25	1,005 (119,4)	1,522 (116,72)	1,5402 (100)
50	1,236 (146,8)	1,696 (130,06)	1,4194 (92,97)
75	1,244 (147,7)	1,550 (118,86)	1,0381 (68,01)
100	1,124 (133,5)	1,379 (105,75)	0,9166 (60,05)
125	1,129 (134,1)	1,360 (104,29)	0,6829 (44,74)
150	1,109 (131,7)	1,367 (104,83)	0,6594 (43,20)
175	1,004 (119,2)	0,927 (71,09)	0,5091 (33,35)
200	0,919 (109,1)	0,710 (54,45)	0,3369 (22,07)
225	0,843 (100,1)	0,734 (56,29)	0,2876 (18,84)
Blank	0,000	0,000	0,000

Tabel 3. Nilai OD (Viabilitas %) Konsentrasi Tamoxifen Berdasarkan Waktu Inkubasi

Konsentrasi Tamoxifen (ppm)	Adjusted Mean OD (Viabilitas %) Perlakuan 24 Jam	Adjusted Mean OD (Viabilitas %) Perlakuan 48 Jam	Adjusted Mean OD (Viabilitas %) Perlakuan 72 Jam
0	0,842 (100)	1,304 (100)	1,5265 (100)
2	0,842 (100)	1,223 (93,78)	1,1939 (78,20)
4	0,946 (112,4)	1,054 (80,83)	1,0879 (71,25)
6	0,550 (65,3)	0,529 (40,57)	0,2847 (18,66)
8	0,032 (3,8)	0,025 (1,92)	0,0212 (1,39)
10	-0,001 (0)	0,020 (1,53)	0,0206 (1,35)
12	0,002 (0,2)	0,012 (0,92)	0,0176 (1,15)
14	-0,001 (0)	0,013 (1,00)	0,0177 (1,28)
16	0,001 (0,1)	0,024 (1,84)	0,0196 (1,28)
18	0,001 (0,1)	0,021 (1,61)	0,0144 (0,94)
KP	0,755 (89,7)	1,217 (93,99)	1,3425 (87,95)

Penentuan Nilai IC50 Ekstrak Kayu Bajakah dan Tamoxifen

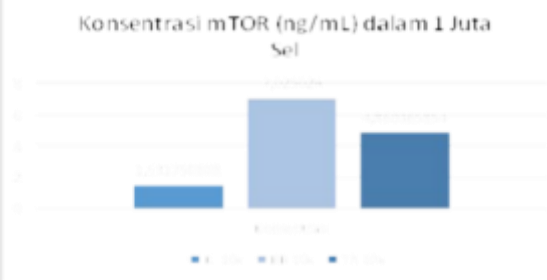
Tabel 4. Nilai IC50 Ekstrak Kayu Bajakah Merah dan Tamoxifen Berdasarkan Waktu Inkubasi

Waktu Inkubasi	Nilai IC50 Bajakah (ppm)	Nilai IC50 Tamoxifen (ppm)
24 Jam	-	6,65
48 Jam	-	5,53
72 Jam	116,4	4,81

Berdasarkan Tabel 4, tamoxifen digunakan sebagai kontrol positif karena memiliki aktivitas antikanker yang kuat pada sel kanker payudara MCF-7. Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai IC50 ekstrak kayu Bajakah Merah menurun seiring bertambahnya waktu inkubasi, menandakan efek sitotoksik yang bersifat time-dependent, dengan nilai tertinggi pada 24 jam dan terendah pada 72 jam. Pola penurunan serupa juga ditunjukkan oleh Tamoxifen, di mana nilai IC50 terendah diperoleh pada inkubasi 72 jam, sehingga waktu inkubasi ini dipilih sebagai dasar penentuan konsentrasi untuk analisis protein mTOR karena dianggap paling merepresentasikan efek sitotoksik maksimal.

Kadar Protein mTOR

Analisis dilakukan menggunakan kit mTOR (ELK9591) dengan metode ELISA dan pengukuran kolorimetri pada tiga kelompok: kontrol negatif (sel MCF-7 tanpa perlakuan), perlakuan ekstrak Bajakah Merah pada konsentrasi IC50 72 jam (116,4 ppm), dan perlakuan Tamoxifen pada IC50 72 jam (4,81 ppm), masing-masing dengan tiga kali ulangan (triplo). Nilai absorbansi dikoreksi terhadap blanko untuk memperoleh adjusted OD, kemudian konsentrasi mTOR dihitung berdasarkan kurva standar dan dinormalisasi terhadap jumlah sel sehingga diperoleh kadar protein mTOR per satu juta sel.



Gambar 8. Konsentrasi mTOR (ng/mL) dalam 1 juta sel

Berdasarkan Gambar 8, hasil pengukuran kadar protein mTOR menggunakan metode ELISA menunjukkan perbedaan konsentrasi antar kelompok perlakuan. Pengukuran dilakukan tiga kali ulangan (OD1, OD2, OD3), kemudian dihitung mean OD dan dikoreksi dengan blanko untuk memperoleh adjusted mean OD. Konsentrasi mTOR dihitung dalam ng/mL, dikalikan faktor pengenceran, dan dinormalisasi terhadap jumlah sel sehingga diperoleh kadar per satu juta sel. Kelompok kontrol menunjukkan kadar terendah (1,53 ng/mL), kelompok ekstrak kayu Bajakah

Merah tertinggi (7,03 ng/mL), sedangkan Tamoxifen berada di antara keduanya (4,86 ng/mL), menandakan adanya perbedaan kadar mTOR antar perlakuan dengan efek tertinggi pada ekstrak kayu Bajakah Merah.

Uji Normalitas Kadar Protein mTOR

Tabel 5. Uji Shapiro-Wilk

Kelompok	Shapiro-Wilk Sig.	Interpretasi
Kontrol (-)	0,948	Normal
Ekstrak Kayu Bajakah	0,382	Normal
Tamoxifen	0,248	Normal

Hasil uji Tabel 5 menunjukkan bahwa kelompok kontrol memiliki nilai signifikansi sebesar 0,948, kelompok perlakuan ekstrak kayu Bajakah sebesar 0,382, dan kelompok perlakuan Tamoxifen sebesar 0,248. Seluruh nilai tersebut lebih besar dari 0,05 ($p > 0,05$), sehingga dapat disimpulkan bahwa data kadar protein mTOR pada seluruh kelompok berdistribusi normal.

Analisis One-Way Anova Kadar Protein mTOR

Tabel 6. Uji One-Way ANOVA

One-Way ANOVA	Kadar protein mTOR
F	52,526
dF	2
Sig.	0,000

Hasil analisis One Way ANOVA pada Tabel 6 menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna kadar protein mTOR antar kelompok perlakuan. Nilai F sebesar 52,526 dan nilai signifikansi $p = 0,000$ ($p < 0,05$) menunjukkan hal ini. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa, dibandingkan dengan kelompok kontrol, pemberian tamoxifen dan ekstrak kayu bajakah merah secara signifikan mempengaruhi tingkat protein mTOR pada sel kanker payudara MCF-7.

Uji Lanjut (Post Hoc Test) Tukey HSD dan Uji Homogenous Subsets Tukey HSD

Uji lanjut Post Hoc Tukey HSD menunjukkan perbedaan kadar protein mTOR yang signifikan antar kelompok perlakuan, dengan kontrol berbeda signifikan terhadap ekstrak bajakah merah (Mean difference = -6,15808; $p = 0,000$) dan Tamoxifen (Mean difference = -3,15494; $p = 0,005$), serta ekstrak bajakah merah berbeda signifikan dengan Tamoxifen (Mean difference = 3,00314; $p = 0,006$).

Tabel 7. Uji Homogenous Subsets Tukey HSD

Kelompok	Rerata Kadar mTOR
----------	-------------------

Kontrol (-)		1,5531
Ekstrak Bajakah	Kayu	7,7112
Tamoxifen		4,7080

Hasil pada Tabel 7 menegaskan bahwa setiap kelompok memiliki kadar mTOR yang bermakna berbeda, dan uji Homogeneous Subsets Tukey HSD membentuk tiga subset yang terpisah sesuai perbedaan tersebut. Hasil ini menunjukkan bahwa kelompok ekstrak kayu bajakah merah memiliki kadar protein mTOR tertinggi, diikuti oleh kelompok tamoksifen, dan kelompok kontrol memiliki kadar terendah.

Pembahasan

Berdasarkan hasil uji sitotoksik menggunakan metode CCK-8, nilai *optical density* (OD) pada kelompok kontrol cenderung lebih rendah dibandingkan kelompok perlakuan pada beberapa kondisi pengamatan. Perbedaan ini tidak secara langsung mencerminkan viabilitas sel yang lebih rendah, melainkan berkaitan dengan kondisi pertumbuhan sel selama kultur. Pada kelompok kontrol, sel kanker payudara MCF-7 tumbuh tanpa agen penghambat sehingga mencapai kondisi overkonfluen. Keadaan ini dapat menurunkan aktivitas metabolik sel akibat keterbatasan nutrisi, akumulasi produk sisa metabolisme, serta peningkatan *contact inhibition*, yang berkontribusi terhadap penurunan nilai OD meskipun jumlah sel relatif tinggi.

Untuk meminimalkan bias akibat kepadatan sel yang berlebihan, pada tahap optimasi dan pelaksanaan penelitian, kelompok kontrol dikulturkan menggunakan flask T75 guna menyediakan luas permukaan pertumbuhan yang lebih optimal. Sementara itu, kelompok perlakuan ditumbuhkan pada plate kultur sel sesuai dengan prosedur perlakuan ekstrak kayu Bajakah Merah dan Tamoxifen. Pendekatan ini bertujuan menjaga viabilitas sel tetap optimal serta memastikan bahwa perbedaan nilai OD dan kadar protein mTOR yang diamati merefleksikan efek biologis perlakuan, bukan artefak teknis akibat kondisi kultur.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan ekstrak kayu Bajakah Merah (*Spatholobus littoralis*) dan Tamoxifen pada sel kanker payudara MCF- 7 menyebabkan perubahan kadar protein mTOR yang bermakna secara statistik dibandingkan kelompok kontrol. Analisis One-Way ANOVA yang dilanjutkan dengan uji Tukey HSD menunjukkan bahwa kadar protein mTOR pada kelompok perlakuan ekstrak kayu Bajakah Merah lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol.

dan berbeda signifikan dengan kelompok Tamoxifen, yang mengindikasikan adanya modulasi jalur mTOR oleh ekstrak tersebut.

Secara teoritis, mTOR merupakan regulator utama pertumbuhan sel, metabolisme, dan proliferasi, yang umumnya berada dalam kondisi hiperaktif pada sel kanker. Oleh karena itu, sel MCF-7 tanpa perlakuan diharapkan menunjukkan aktivitas jalur mTOR yang tinggi. Namun, peningkatan kadar protein mTOR total pada kelompok perlakuan tidak selalu mencerminkan peningkatan aktivitas jalur mTOR secara fungsional, mengingat penelitian ini mengukur mTOR total, bukan bentuk terfosforilasi (p-mTOR) yang merepresentasikan aktivitas biologis jalur tersebut.

Sejumlah penelitian menunjukkan bahwa paparan senyawa antikanker, termasuk senyawa berbasis tanaman, dapat memicu respons kompensatorik seluler berupa peningkatan ekspresi protein jalur pertumbuhan sebagai respons terhadap stres sel. (Zughaibi *et al.*, 2021) melaporkan bahwa senyawa bioaktif tanaman dapat menginduksi aktivasi sementara jalur *cell survival*, termasuk mTOR, sebelum akhirnya memicu penghentian siklus sel dan apoptosis. Selain itu, inhibisi jalur mTOR diketahui dapat memicu mekanisme umpan balik negatif yang meningkatkan ekspresi komponen jalur tersebut meskipun aktivitas *downstream*-nya tetap terhambat. (Saxton and Sabatini, 2017) menegaskan bahwa kadar protein mTOR total tidak selalu berkorelasi langsung dengan aktivitas jalur mTOR, yang lebih akurat dinilai melalui status fosforilasi protein target seperti p70S6K dan 4EBP1.

Dengan demikian, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak kayu Bajakah Merah berpotensi memodulasi jalur mTOR pada sel kanker payudara MCF-7. Peningkatan kadar protein mTOR total yang diamati kemungkinan merupakan bagian dari respons adaptif awal sel terhadap paparan senyawa bioaktif, yang selanjutnya dapat berkontribusi pada gangguan regulasi pertumbuhan sel dan induksi kematian sel. Temuan ini mendukung potensi ekstrak kayu Bajakah Merah sebagai kandidat agen antikanker berbasis bahan alam, meskipun penelitian lanjutan masih diperlukan untuk mengevaluasi aktivitas mTOR secara fungsional melalui pengukuran protein terfosforilasi dan penanda apoptosis.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan

pembahasan mengenai pengaruh ekstrak kayu bajakah merah (*Spatholobus littoralis*) terhadap kadar protein mTORC pada sel kanker payudara MCF-7, dapat disimpulkan bahwa penelitian ini telah berhasil menjawab tujuan dan pertanyaan penelitian yang telah dirumuskan sebelumnya. Pemberian ekstrak kayu bajakah merah terbukti menurunkan viabilitas sel kanker payudara MCF-7 secara bertahap seiring dengan peningkatan konsentrasi dan lamanya waktu inkubasi. Efek sitotoksik paling optimal diperoleh pada waktu inkubasi 72 jam, yang ditunjukkan oleh nilai IC₅₀ terendah dibandingkan inkubasi 24 dan 48 jam. Temuan ini menunjukkan bahwa ekstrak kayu bajakah merah memiliki aktivitas antikanker yang bersifat bergantung pada dosis dan waktu paparan.

Selain itu, hasil pengukuran kadar protein mTORC menunjukkan adanya perbedaan antara kelompok sel MCF-7 yang diberikan perlakuan ekstrak kayu bajakah merah dan kelompok kontrol negatif. Hal ini mengindikasikan bahwa ekstrak kayu bajakah merah berpengaruh terhadap jalur pensinyalan mTORC, yang diketahui berperan penting dalam regulasi pertumbuhan, proliferasi, dan kelangsungan hidup sel kanker payudara. Dibandingkan dengan kontrol positif tamoxifen, aktivitas sitotoksik ekstrak kayu bajakah merah masih lebih rendah. Namun demikian, ekstrak kayu bajakah merah tetap menunjukkan potensi biologis yang bermakna sebagai agen kemopreventif berbasis bahan alam. Dari sudut pandang Islam, pemanfaatan ekstrak kayu bajakah merah sebagai upaya pengobatan dan pencegahan penyakit dapat dibenarkan selama bertujuan menjaga kesehatan dan keselamatan manusia serta didukung oleh bukti ilmiah yang dapat dipertanggungjawabkan.

DAFTAR PUSTAKA

Balata, H., dkk. 2019. *Prevention and Early Detection for NSCLC: Advances in Thoracic Oncology 2018*. Journal of Thoracic Oncology. Elsevier Inc, hlm. 1513–1527. Tersedia di: <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2019.06.011>.

Bray, F., dkk. 2024. *Global Cancer Statistics 2022: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries*. CA: A Cancer Journal for Clinicians, 74(3), hlm. 229–263. Tersedia di: <https://doi.org/10.3322/caac.21834>.

Feng, Y., dkk. 2018. *Breast Cancer Development and Progression: Risk Factors, Cancer Stem Cells, Signaling Pathways, Genomics, and Molecular Pathogenesis*. Genes and Diseases. Chongqing University, hlm. 77–106. Tersedia di: <https://doi.org/10.1016/j.gendis.2018.05.001>.

.Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2024. *Rencana Kanker Nasional 2024–2034 Strategi Indonesia dalam Upaya Melawan Kanker* [Preprint].

- Kim, J., dkk. 2019. *Apoptotic Effects of Xanthium strumarium via PI3K/AKT/mTOR Pathway in Hepatocellular Carcinoma*. Evidence-based Complementary and Alternative Medicine, 2019. Tersedia di: <https://doi.org/10.1155/2019/2176701>.
- Pan, M.-H., dkk. 2013. *Effect of Flavonoids from Fruits and Vegetables in the Prevention and Treatment of Cancer*. Dalam: W.C.S. Cho (ed.) *Cancer Chemoprevention and Treatment by Diet Therapy*. Kowloon: Springer Science, hlm. 23–54. Tersedia di: <http://www.springer.com/series/8883>.
- Pratama, F.E. dan Nuwarda, R.F. 2018. *Review: Senyawa Aktif Antikanker Dari Bahan Alam dan Aktivitasnya*. Farmaka, 16.
- Qin, N., dkk. 2021. *Recent Research Progress of Uncaria spp. Based on Alkaloids: Phytochemistry, Pharmacology and Structural Chemistry*. European Journal of Medicinal Chemistry, 210.
- Ridho, F.M. 2023. *Systematic Review Pharmacy Mechanism of Alkaloids, Flavonoids, and Terpenoids from Bajakah Wood Extract (Uncaria nervosa Elmer) in Inducing Apoptosis in Cancer Cells*. Sys Rev Pharm, 14(3), hlm. 199–203. Tersedia di: <https://doi.org/10.31858/0975-8453.14.3.199-203>.
- Saxton, R.A. dan Sabatini, D.M. 2017. *mTOR Signaling in Growth, Metabolism, and Disease*. Cell. Cell Press, hlm. 960–976. Tersedia di: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.02.004>.
- Zou, Z., dkk. 2020. *MTOR Signaling Pathway and mTOR Inhibitors in Cancer: Progress and Challenges*. Cell and Bioscience. BioMed Central Ltd. Tersedia di: <https://doi.org/10.1186/s13578-020-00396-1>.
- Zughaibi, T.A., dkk. 2021. *Targeting PI3K/Akt/mTOR Pathway by Different Flavonoids: A Cancer Chemopreventive Approach*. International Journal of Molecular Sciences. MDPI. Tersedia di: <https://doi.org/10.3390/ijms222212455>