

# AKTIVITAS SITOTOKSIK PROPRANOLOL TERHADAP SEL KANKER PAYUDARA MCF7 *IN VITRO*

Anati Purwakanthi<sup>1</sup>, Mustofa<sup>2</sup>, Mae Sri Hartati Wahyuningsih<sup>2</sup>

1. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Jambi

2. Departemen Farmakologi dan Terapi Program Studi IKD dan Biomedis Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada

Email: dr.anati.purwakanthi@gmail.com

## ABSTRACT

**Background:** Propranolol is a nonselective beta-blocker drug which is commonly used as an antihypertensive. *In vitro* studies showed that propranolol has anti-proliferative, anti-migratory and cytotoxic effects on cancer cells of lung, colon, breast, nasopharynx, ovarian pancreas and gastric. Therefore, this study is conducted to assess whether propranolol has cytotoxic activity of MCF7 breast cancer cells.

**Research objectives:** This study aimed to assess the effects of propranolol on the cytotoxic activity of MCF7 breast cancer cells.

**Research methods:** This quasi-experimental research using post-test with a non-equivalent control group design. Cytotoxicity test using MTT assay was performed to determine the  $IC_{50}$  propranolol against MCF7 cells.

**Results:** Propranolol showed cytotoxic activity against MCF7 breast cancer cells with  $IC_{50}$  value of  $227.91 \pm 14.74 \mu\text{M}$  ( $67,41 \pm 4,35 \mu\text{g/mL}$ ).

**Conclusion:** Propranolol has cytotoxic activity against MCF7 breast cancer cells.

**Keywords:** propranolol, cytotoxic, MCF7

## ABSTRAK

**Latar Belakang:** Propranolol merupakan obat beta blocker non selektif yang umumnya digunakan sebagai antihipertensi. Penelitian secara *in vitro* menunjukkan propranolol memiliki efek anti proliferasi, anti migrasi dan sitotoksik pada sel kanker paru, kolon, payudara nasofaring, ovarium pankreas dan lambung. Berdasarkan hal tersebut penelitian ini dilakukan untuk mengkaji apakah propranolol memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara MCF7

**Tujuan Penelitian:** Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji pemberian propranolol terhadap aktivitas sitotoksik sel kanker payudara MCF7.

**Metode Penelitian:** Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen kuasi dengan rancangan *post test with non equivalent control group design*. Uji sitotoksik menggunakan MTT assay dilakukan untuk menetapkan  $IC_{50}$  propranolol terhadap sel MCF7.

**Hasil:** Propranolol memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara MCF7 dengan  $IC_{50}$  sebesar  $227,91 \pm 14,74 \mu\text{M}$  ( $67,41 \pm 4,35 \mu\text{g/mL}$ ).

**Kesimpulan:** Propranolol memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara MCF7

**Keywords:** propranolol, sitotoksik, MCF7

---

## PENDAHULUAN

Kanker payudara merupakan salah satu penyakit kanker yang paling banyak didiagnosis dan dapat menyebabkan kematian pada wanita di seluruh dunia. Di Indonesia, prevalensi kanker payudara ke-2 tertinggi setelah kanker serviks yaitu sebesar 0,5‰, dan menurut data RS Kanker Dharmas kanker payudara merupakan kanker penyebab kematian tertinggi<sup>1</sup>

Propranolol merupakan  $\beta$ -blocker non-selektif yang kompetitif menghambat aksi epinefrin dan norepinefrin di  $\beta$ 1-dan  $\beta$ 2-adrenergik reseptor (AR). Umumnya propranolol digunakan pada penderita hipertensi dan gangguan irama jantung<sup>2</sup>. Pada penelitian epidemiologi ditemukan bahwa pemberian terapi propranolol berhubungan dengan menurunnya progresivitas dan kematian penderita karena kanker payudara<sup>3</sup>. Powe *et al.* (2010) melakukan penelitian pada 466 wanita yang mengalami kanker payudara menunjukkan propranolol menghambat migrasi sel kanker payudara yang diinduksi oleh norepinefrin ke tempat lain sehingga dapat mengurangi metastasis, rekurensi, dan kematian karena kanker payudara. Sejumlah penelitian *in vitro* lainnya menunjukkan propranolol memiliki efek anti proliferasi, anti migrasi dan sitotoksik pada kanker paru, kolon, payudara, nasofaring, ovarium, pankreas dan lambung. Potensi anti kanker ini telah dikonfirmasi menggunakan hewan coba dengan sel kanker manusia<sup>5</sup>.

Berdasarkan uraian di atas, mendorong peneliti untuk mengkaji apakah

propranolol memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara MCF7.

## METODE PENELITIAN

### Jenis dan rancangan penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen kuasi dengan menggunakan *post test with non equivalent control group design*. Penelitian dilakukan pada kultur sel MCF7 (sel kanker payudara) dengan pemberian golongan obat beta bloker yaitu propranolol, dan dokсорubisin sebagai kontrol.

### Bahan dan alat penelitian

#### Bahan penelitian

Propranolol (Sigma-Aldrich®), dokсорubisin, serbuk media DMEM (Gibco®), Fetal Bovine Serum (FBS) 10% (Gibco®), Amfoterisin B (Gibco®), Penisilin + Streptomisin (Penstrep; Gibco®), Tripsin EDTA 0,25% (Gibco®), kertas saring 0,2  $\mu$ m (Whatman®), 4-(2-hydroxyethyl)-piperazine-ethane sulphonic acid (HEPES) (Sigma-Aldrich®), Natrium bikarbonat (NacalaiTesque), Phosphate Buffer Saline (PBS) (Invitrogen®), pereaksi yellow MTT ((3-(4,5-dimetilthiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolium bromida) (Bio Basic Inc.®), Sodium Dedosil Sulfat (SDS) (Merck®).

#### Alat Penelitian

Plat mikrokultur 96 sumuran (SPL®), beaker glass 1 L (Pyrex®), screw-capped conical tube (Becton-Dickinson®), botol kaca steril 250 mL (Schott-Duran®), mikropipet 10, 20, 200, 1000  $\mu$ L (Gilson®), inverted microscope (Olympus CKX41 dan Carl Zeiss Axiovert 25C), hemositometer

(Assistant Germany), penyampur (Thermolyne Maxi Mix II), mikroskop cahaya (Nikon YS100), Vortex, Cover slip(NUNC®), gelas objek (Sail Brand®), lemari es pendingin (National NR-B22AF Deodonizer), tip kuning, putih dan biru.

### **Cara penelitian**

#### **Uji sitotoksitas**

Dibuat tujuh seri konsentrasi propranolol yaitu; 400; 360; 320; 280; 240; 200 dan 160 $\mu$ M dalam media DMEM, dan doksorubisin, yaitu 200; 100; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,125  $\mu$ M. Plat mikrokultur 96 sumuran dimasukkan sel sejumlah  $1 \times 10^4$  sel/sumuran dalam media DMEM. Keesokan harinya media dibuang dan diganti dengan serial konsentrasi bahan uji dan diinkubasi selama 24 jam pada inkubator CO<sub>2</sub> 0,5% suhu 37°C dibuat triplikat. Setelah itu, media dibuang, setiap sumuran ditambah dengan 100  $\mu$ L media baru dan 10  $\mu$ L reagen MTT (10  $\mu$ L/100  $\mu$ L per sumuran), kemudian diinkubasi selama 4-6 jam dalam inkubator CO<sub>2</sub> 0,5% suhu 37°C. Setelah itu, setiap sumuran ditambah dengan 100  $\mu$ L *sodium dodecyl sulfate* (SDS) 10% dalam HCl

0,01%. Plat mikrokultur dibungkus dengan alumunium foil dan diinkubasi pada suhu kamar selama 12 jam atau semalaman. Sumuran mikrokultur tersebut kemudian dibaca absorbansinya menggunakan ELISA *reader* pada panjang gelombang 595 nm.

### **Analisis Hasil**

#### **Uji sitotoksitas untuk menetapkan nilai IC<sub>50</sub> senyawa Propranolol dan doksorubisin**

Persentase viabilitas sel yang diperoleh digunakan untuk menetapkan persentase hambatan proliferasi sel yang diperoleh melalui pengurangan nilai 100 % dengan persentase viabilitas sel tersebut. Data hambatan proliferasi sel ini selanjutnya digunakan untuk menetapkan nilai IC<sub>50</sub> senyawa propranolol maupun doksorubisin menggunakan analisis regresi probit antara konsentrasi senyawa bahan uji (propranolol dan doksorubisin) dengan rata-rata persentase hambatan proliferasi sel.

### **HASIL PENELITIAN**

Hasil uji aktivitas sitotoksik propranolol terhadap sel MCF7 dapat dilihat di tabel 1.

**Tabel 1.** Nilai rata-rata persentase penghambatan proliferasi sel MCF7 dan IC<sub>50</sub> semua kelompok perlakuan.

Bahan Uji	Konsentrasi ( $\mu\text{M}$ )	Persentase hambat proliferasi sel (%)				
		Replikasi			$\bar{X}$ IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{M} \pm\text{SD}$ )	$\bar{X}$ IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/mL} \pm\text{SD}$ )
		1	2	3		
Propranolol	360	96,73	99,16	98,51		
	320	90,32	98,54	96,58		
	280	66,87	93,53	89,21		
	240	32,92	77,24	74,61	227,91	67,41
	200	14,18	29,92	26,49	$\pm 14,74$	$\pm 4,35$
	160	16,56	14,34	14,73		
IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{M}$ )		250,76 $\pm 15,92$	214,2 $\pm 13,93$	219,04 $\pm 14,37$		
Doksorubisin	200	89,98	94,64	91,47		
	100	64,69	78,98	72,03		
	50	49,9	44,12	44,83	55,86	30,36
	25	40,15	38,48	35,72	$\pm 11,43$	$\pm 6,21$
	12,5	30,33	35,07	29,26		
	6,25	28,97	31,73	26,42		
	3,125	26,24	34,73	31,01		
IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{M}$ )		60,95 $\pm 11,9$	47,40 $\pm 11,41$	59,22 $\pm 11,70$		

## PEMBAHASAN

### Uji sitotoksitas untuk menetapkan IC<sub>50</sub> senyawa propranolol

Dosis sitotoksik yang digunakan untuk orientasi dosis propranolol adalah 400, 360, 320, 280, 240, 200, dan 160  $\mu\text{M}$  dengan metode MTT assay<sup>6</sup>. Hasil dari penelitian ini menunjukkan semakin tinggi konsentrasi propranolol yang diberikan sebanding dengan peningkatan rata-rata persentase penghambatan proliferasi pada sel kanker payudara MCF7. Penelitian ini menunjukkan propranolol memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara MCF7 dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 227,91 $\pm$ 14,74  $\mu\text{M}$  (67,41 $\pm$ 4,35  $\mu\text{g/mL}$ ).

Sedangkan nilai IC<sub>50</sub> doxorubisin sebesar 55,86 $\pm$ 11,43 $\mu\text{M}$  (30,36  $\pm$ 6,21  $\mu\text{g/mL}$ ). Hasil ini sejalan dengan beberapa penelitian dimana senyawa propranolol mampu menghambat pertumbuhan sel kanker. Pemberian propranolol dengan konsentrasi 200  $\mu\text{M}$  selama 24 jam mampu menghambat proliferasi *cell line* SGC-7901 yang merupakan turunan kanker gaster<sup>7</sup>. Penelitian lainnya disebutkan bahwa propranolol memiliki sensitifitas yang berbeda-beda untuk tiap *cell line*, yaitu IC<sub>50</sub> berkisar 100-269  $\mu\text{M}$ <sup>5</sup>.

Kriteria ketoksikan suatu senyawa terhadap sel kanker berdasarkan *American National Cancer Institute* (NCI) dinyatakan

dengan nilai  $IC_{50}$ . Suatu senyawa digolongkan memiliki sitotoksitas tinggi apabila nilai  $IC_{50} < 20\mu\text{g/mL}$ , sedang  $20\text{-}200\mu\text{g/mL}$ , rendah  $201\text{-}500\mu\text{g/mL}$ , dan tidak aktif  $>500\mu\text{g/mL}$ <sup>8</sup>. Pada penelitian ini didapatkan  $IC_{50}$  propranolol sebesar  $227,91\pm 14,74\mu\text{M}$  ( $67,41\pm 4,359\mu\text{g/mL}$ ), hal ini menunjukkan propranolol memiliki kecenderungan untuk menghambat proliferasi dari sel MCF7, hasil ini dapat digunakan untuk penelitian lebih lanjut untuk mengetahui mekanisme sitotoksik dari propranolol terhadap sel MCF7.

## KESIMPULAN

Propranolol memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara MCF7 dengan  $IC_{50}$  propranolol sebesar  $227,91\pm 14,74\mu\text{M}$  ( $67,41\pm 4,359\mu\text{g/mL}$ ).

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terima kasih kepada LPDP Kementerian Keuangan Republik Indonesia atas dana penelitian beasiswa tesis dengan kontrak Nomor: PRJ-527 /LPDP.3/2016

## DAFTAR PUSTAKA

1. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia., 2015. Stop Kanker. Pusat Data dan Informasi. Kementerian Kesehatan RI. Diakses : 14 Juli 2015.
2. Wolter, J. K., Wolter, N. E., Blanch, A., Partridge, T., Cheng, L., Morgenstern, D. a, *et al.* 2014. Antitumor activity of the beta-adrenergic receptor antagonist propranolol in neuroblastoma., *Oncotarget*, 5 (1): 161–72.
3. Barron, T. I., Connolly, R. M., Sharp, L., Bennett, K. and Visvanathan, K. 2011. Beta blockers and breast cancer mortality: A population-based study, *J.Clin Onco.* 29 (19):2635–2644.
4. Powe, DG., Voss, MJ., Zanker, KS., Habashy, HO., Green, AR., Ellis, IO., Entschladen, F. 2010. Beta blocker drug therapy reduces secondary cancer formation in breast cancer and improves cancer specific survival. *Oncotarget*, 1 (7):628-638
5. Pasquier, E., Ciccolini, J., Carre, M., Giacometti, S., Fanciullino, R., Pouchy, C., *et al.* 2011. Propranolol potentiates the anti-angiogenic effects and anti-tumor efficacy of chemotherapy agents: implication in breast cancer treatment., *Oncotarget*, 2 (10): 797–809
6. Putra, B., Wahyuningsih, MSH., Sholikhah, EN., 2017. Cytotoxic activity of Simvastatin in T47D Breast Cancer Cell Lines and its effect on cyclin D1 Expression and Apoptosis. *J.Med.Sci*, 49 (1): 1-9
7. Liao, X., Che, X., Zhao, W., Zhang, D., Bi, T., Wang, G., 2010. The  $\beta$ -adrenoreceptor antagonist, propranolol, induces human gastric cancer cell apoptosis and cell cycle arrest via inhibiting nuclear factor  $\kappa\text{B}$  signaling. *OncoReport.* 24: 1669-1676
8. Sajjadi, SE., Ghanadian, M., Haghghi, M., Mouhebat, L. 2015. Cytotoxic effect of *Cousinia verbascifolia* Bunge against OVCAR-3 and HT-29 cancer cells. *J HerbMed Pharmacol.* 4(1): 15-19.