

Pengembangan dan Pengujian Nanopartikel Kitosan Mimik HSA-LET-7A-5P terhadap Jalur Persinyalan Siklus Sel pada Lini Sel Kanker Payudara T47D

INTISARI

Latar belakang: Kanker payudara merupakan kanker dengan insidensi tertinggi di dunia. Subtipe luminal A merupakan subtipe dengan insidensi tertinggi. Meski responsif terhadap terapi endokrin, namun sebagian besar luminal A bersifat resisten karena ketidakstabilan genetik. Pendekatan jalur molekuler melalui pemberian dan/atau penggantian materi genetik mikro RNA (miRNA) pada sel kanker diketahui dapat mengatasi masalah deregulasi miRNA. MikroRNA hsa-let-7a-5p (miR-hsa-let-7a-5p) berperan sebagai miRNA *tumor suppressor* yang menarget mRNA onkogen. Penurunan ekspresi miR-hsa-let-7a-5p berkaitan dengan progresivitas berbagai kanker. Dalam upaya meningkatkan efektivitas dan biokompatibilitas penghantaran miRNA ke sel target dikembangkan berbagai *drug delivery* dengan nanopartikel kitosan (NPK). Nanopartikel kitosan memiliki potensial zeta positif sehingga mudah membentuk kompleks dengan miRNA.

Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk membuat formulasi nanopartikel kitosan mimik miR-let-7a-5p dan menguji pengaruhnya terhadap sel T47D melalui ekspresi miR-let-7a-5p, *CCND1*, dan penutupan area *scratch wound healing*.

Metode: Formulasi nanopartikel kitosan miR-let-7a dibuat dengan metode gelasi ionik dengan natrium tripolifosfat sebagai *cross-linker*. Karakterisasi nanopartikel dilakukan dengan uji elektroforesis, efisiensi enkapsulasi, ukuran dan potensial zeta, dan *Transmission Electron Microscopy* (TEM). Uji aktivitas terhadap sel kanker payudara T47D dilakukan dengan uji MTT, ekspresi miR-let-7a-5p dan mRNA *CCND1* dengan qRT-PCR, serta uji *scratch wound healing*.

Hasil penelitian: Hasil karakterisasi menunjukkan NPK dapat mengenkapsulasi miR-let-7a-5p dengan efisiensi enkapsulasi $73,95 \pm 0,041\%$. Diameter rata-rata NPK miR-let-7a-5p sebesar 140,6 nm dengan indeks polidispersi (PDI) 0,265 dan potensial zeta $20,8 \pm 2,33$. Uji MTT menunjukkan NPK miR-let-7a-5p mampu menghambat viabilitas sel dengan IC_{50} 146.1 ± 13.17 nM. Pada perlakuan NPK miR-let-7a-5p ekspresi miR-let-7a-5p lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol. Dibandingkan kelompok kontrol, perlakuan NPK miR-let-7a-5p memiliki ekspresi *CCND1* yang lebih rendah serta terjadi penghambatan penutupan area *scratch wound healing*.

Kesimpulan: Formulasi NPK miR-let-7a-5p memiliki karakteristik yang baik dan dapat menghambat perkembangan lini sel kanker payudara T47D melalui penurunan ekspresi *CCND1* dan penghambatan penutupan area *scratch wound healing*.

Kata kunci: Nanopartikel kitosan, miR-let-7a-5p, kanker payudara, T47D, *CCND1*

Development and Evaluation of Chitosan Nanoparticles Mimic Hsa-Let-7a-5p on Cell Cycle Signaling Pathway in T47D Breast Cancer Cell Line

ABSTRACT

Background: Breast cancer is cancer with the highest incidence in the world. The luminal subtype A is the highest incidence of breast cancer. Although responsive to endocrine therapy, most luminal A is resistant due to genetic instability. A molecular approach through the administration or replacement of microRNA genetic material in cancer cells can overcome the problem of miRNA deregulation in cancer pathogenesis. MicroRNA hsa-let-7a-5p (miR-hsa-let-7a-5p) is a miRNA known to act as a tumor suppressor. Decreased expression of miR-hsa-let-7a-5p is associated with the progression in various cancers. Drug delivery using chitosan nanoparticles (ChNP) have been developed to improve the effectiveness and biocompatibility of miRNA delivery to target cells. Chitosan nanoparticles (ChNP) have a positive zeta potential so form complexes with miRNA.

Objective: This study aims to formulate ChNP mimic miR-let-7a-5p and evaluate the effect on T47D cells by examining the expression of miR-let-7a-5p and CCND1, and percentage of the wound healing area closure.

Methods: Formulation of ChNP miR-let-7a was prepared using the ionic gelation method with sodium tripolyphosphate (NaTPP) as a cross-linker. The characterization of nanoparticles was determined by electrophoresis, encapsulation efficiency, size and zeta potential, and Transmission Electron Microscopy (TEM). The MTT test determined the activity against T47D breast cancer cells, miR-let-7a-5p expression and CCND mRNA was determined by qRT-PCR, and percentage of the wound healing area closure by scratch wound healing assay.

Results: The characterization results showed that ChNP could encapsulate miR-let-7a-5p with an encapsulation efficiency of $73.95 \pm 0.041\%$. The average diameter of the ChNP miR-let-7a-5p was 140.6 nm with a polydispersion index (PDI) of 0.265 and zeta potential of 20.8 ± 2.33 . The MTT assay test showed that the NPK miR-let-7a-5p could inhibit cell viability with an IC₅₀ of 146.1 ± 13.17 nM. Compared to the control group, the ChNP miR-let-7a-5p treatment had higher miR-let-7a-5p expression, lower CCND1 expression and inhibited *scratch* wound healing area closure of T47D cells.

Conclusion: The miR-let-7a-5p NPK formulation has good characteristics and can inhibit the development of T47D breast cancer cells by decreasing CCND1 expression and inhibiting *scratch* wound healing area closure.

Keywords: Chitosan nanoparticles, miR-let-7a-5p, breast cancer, T47D, CCND1