

OPTIMASI PROTOKOL KULTUR SEL UNTUK PEMELIHARAAN DAN PROPAGASI EFISIEN SEL KANKER PAYUDARA T47D

Aluh Sri Yuliana Ulfa*

*Fakultas Kedokteran, Universitas Pendidikan Ganesha
Departemen Histologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Pendidikan Ganesha

*)Email Korespondensi: aluh.yuliana.ulfa@undiksha.ac.id

Abstract: Breast Cancer is a Lethal Disease with an Increasing Incidence Rate, Where Research Using T47D Breast Cancer Cells Provides New Insights Into Therapy. This study examines the impact of optimized culture media on the growth and viability of T47D cells. Despite extensive research, the specific impact of certain culture media components on T47D cells remains unclear, particularly in the context of enhancing culture efficiency. We employed a cell culture approach with media component variations to assess the growth and viability of T47D cells. Through the optimization of culture media containing insulin and DMSO, and the adjustment of incubation conditions, we found that T47D cells exhibited improved viability and growth. Successful cell culture was marked by rapid adaptation during the lag phase and exponential increase during the log phase. Our findings provide new insights into the ideal culture conditions for T47D cells, suggesting the potential for improving laboratory protocols for further breast cancer studies.

Keywords: Breast Cancer, Cell Culture, DMSO, Insulin, T47D Cells.

Abstrak: Optimasi Protokol Kultur Sel Untuk Pemeliharaan Dan Propagasi Efisien Sel Kanker Payudara T47D. Kanker payudara merupakan salah satu penyakit mematikan dengan tingkat insidensi yang terus meningkat, di mana penelitian menggunakan sel kanker payudara T47D memberikan masukan baru dalam terapi. Penelitian ini mengkaji pengaruh media kultur yang dioptimalkan terhadap pertumbuhan dan viabilitas sel T47D. Meskipun banyak studi telah dilakukan, pengaruh komponen media kultur tertentu pada sel T47D masih belum jelas, terutama dalam konteks peningkatan efisiensi kultur. Penelitian ini menggunakan pendekatan kultur sel dengan variasi komponen media untuk menilai pertumbuhan dan viabilitas sel T47D. Melalui optimisasi media kultur yang mengandung insulin dan DMSO, serta penyesuaian kondisi inkubasi, kami menemukan bahwa sel T47D menunjukkan peningkatan viabilitas dan pertumbuhan. Keberhasilan kultur sel ditandai dengan adaptasi cepat pada fase lag dan peningkatan eksponensial selama fase log. Temuan kami memberikan wawasan baru tentang kondisi kultur yang ideal untuk sel T47D, menyarankan potensi peningkatan protokol laboratorium untuk studi kanker payudara lebih lanjut.

Kata Kunci: DMSO, Kanker Payudara, Kultur Sel, Insulin, Sel T47D.

PENDAHULUAN

Kanker payudara merupakan salah satu tantangan kesehatan global yang paling signifikan di abad ini, menempati posisi sebagai penyebab utama kedua dari kasus kanker pada wanita di seluruh dunia. Penyakit ini ditandai dengan tingkat heterogenitas yang tinggi, baik pada aspek genetik maupun ekspresi fenotipik, yang mempengaruhi respons terhadap terapi dan prognosis pasien (Suwarna, 2020; Mahardika, 2021). Di Indonesia, prevalensi kanker payudara terus meningkat, dengan kasus baru yang cenderung muncul pada

usia lebih muda dibandingkan di negara-negara Barat, menimbulkan kebutuhan mendesak untuk strategi deteksi dan terapi yang lebih efektif.

Kultur sel T47D, sebagai model kanker payudara manusia yang mengekspresikan reseptor estrogen dan progesteron serta mutasi pada protein p53, menyediakan platform yang berharga untuk mempelajari biologi kanker payudara dan pengembangan terapi (ISyaraqi, 2020). Selain itu, sensitivitas sel ini terhadap estradiol dan faktor pertumbuhan seperti

insulin menyoroti pentingnya memahami interaksi lingkungan mikro sel dengan karakteristik genetik dan fenotipik sel kanker. Meskipun telah dilakukan banyak penelitian menggunakan sel T47D, masih terdapat kesenjangan pengetahuan mengenai optimasi kondisi kultur untuk mendukung pertumbuhan dan viabilitas sel ini. Faktor-faktor seperti komposisi media, suplementasi nutrisi, dan kondisi fisikokimia lingkungan kultur dapat berdampak signifikan terhadap hasil eksperimental, namun belum banyak dibahas dalam literatur (Ma'at, 2019).

Pada penelitian ini, dilakukan eksplorasi pengaruh berbagai kondisi kultur, termasuk komposisi media dan suplemen, terhadap pertumbuhan dan viabilitas sel T47D. Dengan menggunakan pendekatan eksperimental yang sistematis, penelitian ini berhasil mengidentifikasi kondisi kultur yang optimal, yang mendukung pertumbuhan sel dan mempertahankan karakteristik fenotipik kunci sel T47D. Temuan ini memiliki implikasi penting untuk penelitian kanker payudara ke depan, khususnya dalam konteks pengujian obat

dan terapi baru. Dengan memahami bagaimana kondisi kultur mempengaruhi sel T47D, peneliti dapat merancang eksperimen yang lebih akurat dan relevan, mempercepat pengembangan terapi yang efektif terhadap kanker payudara.

METODE

Pada proses pengembangan medium kultur untuk penelitian ini, pertama-tama dilakukan penyiapan medium Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) sebagai dasar, dengan penambahan hingga 50 ml per 100 ml medium untuk mencapai konsentrasi yang diinginkan. Pada medium ini, ditambahkan 1 ml penisilin-streptomisin (2% dari total volume), 5 ml Fetal Bovine Serum (FBS) untuk mencapai konsentrasi 10%, dan 1 ml L-Glutamin (2% dari total volume). Sebagai tindakan pencegahan terhadap kontaminasi jamur, fungizone sejumlah 500 µl juga ditambahkan bila diperlukan. Seluruh komponen medium kemudian dipanaskan dalam waterbath pada suhu 37°C untuk menjamin kondisi optimal bagi pertumbuhan sel sebagaimana terlihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Bahan Pembuatan Medium Kultur

Bahan	Jumlah (%)	Jumlah (100 ml)
Media (DMEM)	Tambahkan sampai 100	Tambahkan sampai 50 ml
Penisilin-streptomisin	2	1 ml
FBS (Fetal Bovine Serum)	10	5 ml
L-Glutamin	2	1 ml

Proses inisiasi kultur dimulai dengan mengambil ampul cell line T47D dari penyimpanan nitrogen cair dan meletakkannya dalam wadah berisi es. Ampul kemudian dipanaskan dalam air pada suhu 37°C untuk beberapa detik hingga es di dalamnya hampir mencair. Selanjutnya, suspensi sel dipindahkan ke dalam tabung konikal yang sudah berisi 10 ml DMEM, diikuti dengan proses sentrifugasi pada kecepatan 1000 rpm selama 5 menit. Medium DMEM kemudian dibuang dan sel diresuspensi dengan medium lengkap sebanyak 5 ml sebelum dipindahkan ke dalam flask untuk diperiksa kepadatannya di bawah mikroskop inverted. Sel diinkubasi dalam CO2 inkubator pada suhu 37°C dan CO2 sebesar 5% selama 48 jam, dengan posisi ulir penutup labu kultur setengah terbuka untuk pertukaran gas yang efisien. Jika observasi

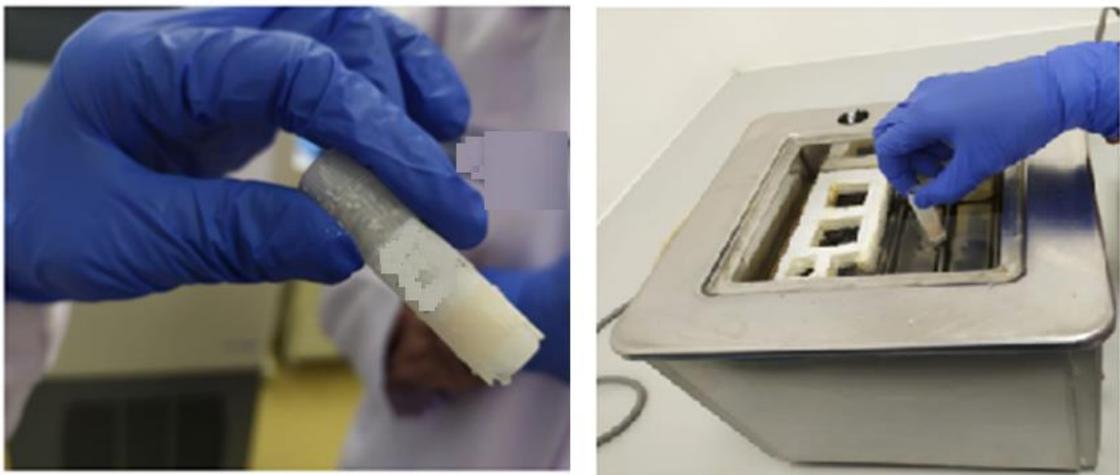
di bawah mikroskop inverted menunjukkan bahwa sel tidak tumbuh dengan baik, maka akan dilakukan prosedur thawing ulang dengan mengganti medium pada flask yang sama. DMEM dan Medium Lengkap dipanaskan kembali, medium lama dibuang, dan sel diresuspensi dalam medium baru. Proses ini diulangi hingga sel menunjukkan pertumbuhan yang lebih baik.

Cara perhitungan jumlah sel, pada menggunakan bilik hitung Burker chamber. Sel diresuspensi dalam medium lengkap, diambil sebanyak 1 ml, dan kemudian dicampur dengan Tripkan Blue sebelum dihitung jumlahnya. Akhirnya, untuk proses pembekuan sel, kemudian dipersiapkan medium pembekuan yang terdiri dari FBS, DMSO, dan DMEM, yang kemudian digunakan untuk menyimpan sel secara bertahap pada suhu 4°C, -20°C, -80°C, dan

akhirnya dalam nitrogen cair. disentrifugasi. Supernatan dibuang dan pellet sel diresuspensi dalam medium lengkap sebelum dipindahkan ke flask kultur baru untuk inkubasi lebih lanjut.

Cara menghitung sel, pada enelitian ini menggunakan bilik hitung Burker chamber atau counter sel setelah sel dilepaskan dengan tripsin dan diresuspensi dalam medium lengkap. Suspensi sel diencerkan dengan Tripkan Blue untuk membedakan sel hidup dan mati, kemudian

dihitung dalam bilik hitung. dengan persamaan: Sel terhitung 25 kotak x pengenceran x 10^4 . Akhirnya, prosedur pembekuan sel dilakukan dengan membuat medium pembekuan yang terdiri dari FBS 40%, DMSO 20%, dan DMEM. Sel disiapkan dalam cryo vial, bertahap disimpan pada suhu yang berkurang mulai dari 4°C , -20°C , hingga -80°C sebelum akhirnya disimpan dalam nitrogen cair untuk pelestarian jangka panjang



Gambar 1. Proses Kultur Sel

HASIL

Penelitian ini dimulai dengan persiapan bahan dan medium yang diperlukan untuk kultur sel T47D. Proses dimulai pada hari berikutnya, dengan mengeluarkan satu ampul cell line T47D dari penyimpanan nitrogen cairnya dan mencairkannya secara hati-hati dalam suhu 37°C untuk memastikan tidak ada gumpalan es yang tersisa sebelum proses lebih lanjut. Suspensi sel tersebut

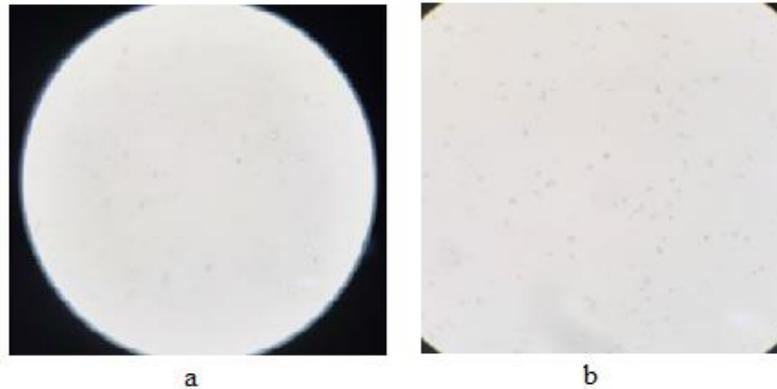
Kemajuan kultur diperiksa pada hari ketiga, dengan fokus pada adhesi sel dan perkembangan selanjutnya. Namun, pada tanggal hari ke 3, ditemukan pertumbuhan sel yang tidak optimal sehingga mengakibatkan sel-sel terlihat semakin mengecil dan terpisah. Olehkarena hal tersebut, maka harus dilakukan proses thawing ulang dengan mengganti medium pada flask yang sama, prosedur yang dijelaskan secara detail dan dapat dilihat pada Gambar 2 untuk perbandingan sebelum dan setelah thawing ulang. Salah

kemudian dipindahkan ke dalam tabung konikal yang sudah berisi medium DMEM sejumlah 10 ml, diikuti dengan serangkaian langkah termasuk sentrifugasi, pembuangan medium lama, dan penambahan medium baru. Kepadatan sel diperiksa di bawah mikroskop terbalik sebelum akhirnya dikultur dalam inkubator CO_2 dengan kondisi spesifik yang telah ditetapkan, sesuai dengan Gambar 1.

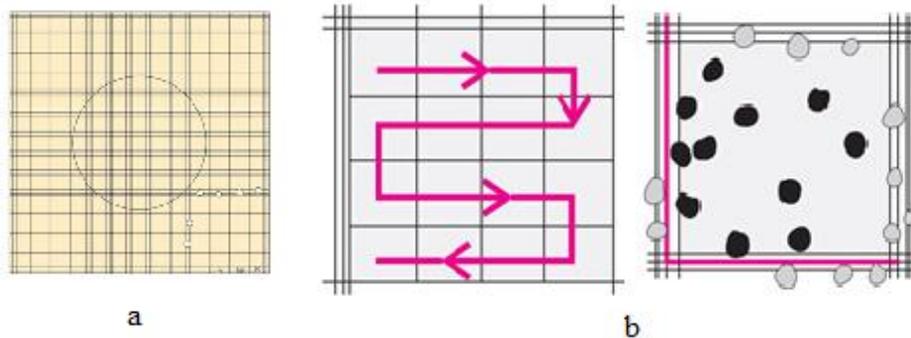
satu aspek kritis dalam proses kultur sel adalah perhitungan jumlah sel, yang harus dilakukan dengan teliti menggunakan metode bilik hitung haemocytometer. Metode ini dijelaskan lebih lanjut di Gambar 3 dan menghasilkan estimasi jumlah sel yang akurat, seperti ditunjukkan pada Gambar 4, menunjukkan efektivitas proses kultur. Selanjutnya, dilakukan evaluasi pertumbuhan sel melalui kurva pertumbuhan, seperti yang diilustrasikan pada Gambar 5. Pada gambar 5 merupakan fase adaptasi awal (lag phase) diikuti oleh

peningkatan laju pertumbuhan selama log phase, menegaskan kesesuaian kondisi

kultur yang digunakan dengan kebutuhan sel.



Gambar 2. Hasil pengamatan hari ke 3.
a. Sebelum thawing ulang b. Setelah thawing ulang



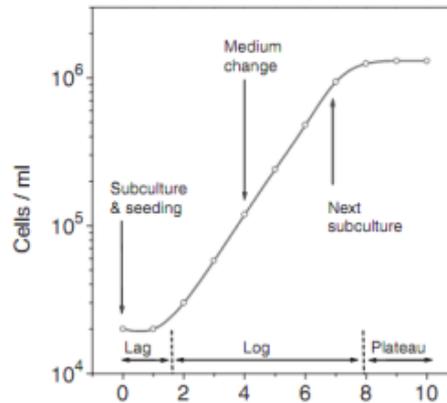
Gambar 3. Cara Perhitungan.
(a) Deskripsi bilik hitung haemocytometer (b) Metode hitung

Pada perhitungan manual didapatkan:

- I : 6 sel
- II : 2 sel
- III : 2 sel
- IV : 2 sel
- Pengenceran 2x
- Jumlah sel/ml = $12 \times 2 \times 10^4 = 2.4 \times 10^5$

Pada saat melakukan perhitungan sel kultur, didalam kotak yang dihitung tidak terdapat gambaran sel yang mati. Dimana gambaran sel yang mati akan tampak berwarna biru oleh tambahan Trypan blue. Keseluruhan proses ini tidak hanya memerlukan keterampilan dalam kultur sel tetapi juga pentingnya pemantauan dan adaptasi terhadap kondisi kultur untuk memaksimalkan viabilitas dan proliferasi sel T47D. Dalam hasil terlihat bahwa

signifikansi insulin dalam medium kultur, efek DMSO sebagai komponen kritis yang mempengaruhi pertumbuhan sel, serta peran penting *Insulin-like Growth Factor 1* (IGF-1). Keseluruhan penelitian ini menyoroti kompleksitas dan nuansa kultur sel T47D, sekaligus menunjukkan pentingnya eksplorasi mendalam tentang karakteristik spesifik sel line dan protokol kultur yang tepat



Gambar 5. Kurva Pertumbuhan

PEMBAHASAN

Pada kajian terhadap kultur sel T47D, pentingnya insulin sebagai komponen tambahan dalam medium kultur tidak bisa diremehkan. Insulin berperan krusial dalam merangsang pertumbuhan dan pemeliharaan sel T47D, menunjukkan betapa vitalnya hormon ini untuk memaksimalkan potensi proliferasi sel. Lebih lanjut, proses pencairan ampul sel dalam air pada suhu 37°C mengungkap peran signifikan Dimethyl Sulfoxide (DMSO) dalam mencegah pembentukan kristal es yang berpotensi merusak sel. Namun, penting untuk diperhatikan bahwa meskipun DMSO memberikan perlindungan pada suhu rendah, substansi ini dapat menjadi toksik pada suhu yang lebih tinggi, yang menegaskan perlunya penanganan yang hati-hati untuk menjaga integritas sel.

Saat melakukan pasase—proses membagi atau memperbanyak sel—ternyata sel-sel T47D belum mencapai kondisi konfluen, yaitu keadaan dimana sel-sel telah menutupi seluruh permukaan wadah kultur secara merata, yang merupakan indikator kesehatan dan kesiapan sel untuk diproses lebih lanjut. Kondisi ini menandakan bahwa sel-sel belum optimal untuk dijalankan proses

KESIMPULAN

Pada penelitian ini, kami menemukan bahwa medium yang diperkaya dengan penisilin-streptomisin memiliki pengaruh signifikan terhadap pertumbuhan sel,

pasase, menyoroti pentingnya memonitor kondisi dan pertumbuhan sel secara ketat sebelum melanjutkan ke tahapan eksperimen selanjutnya.

Selain itu, kekhawatiran akan kontaminasi mycoplasma menjadi sorotan penting dalam pembahasan ini. Kontaminasi semacam ini dapat menghambat pertumbuhan sel dan mempengaruhi hasil eksperimen, namun keberadaannya sering tidak terdeteksi tanpa pemeriksaan khusus yang melibatkan teknik seperti Polymerase Chain Reaction (PCR), Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA), dan fluoresensi. Faktor ini menggarisbawahi pentingnya pemeriksaan rutin untuk kontaminasi mycoplasma dalam penelitian kultur sel. Akhirnya, penggunaan antibiotik dalam medium kultur dapat menyamarkan keberadaan infeksi mycoplasma dan kontaminasi lain, menimbulkan tantangan tambahan dalam menjaga keaslian dan keandalan kondisi kultur sel. Penggunaan antibiotik ini harus dilakukan dengan pertimbangan yang matang, memastikan bahwa keberadaan potensial kontaminasi dapat diidentifikasi dan ditangani secara efektif untuk mempertahankan integritas eksperimen kultur sel T47D.

menegaskan pentingnya antibiotik dalam pengelolaan kultur sel untuk mencegah kontaminasi mikroba. Lebih lanjut, Dimethyl Sulfoxide (DMSO), sebagai salah satu pelarut organik terkuat, terbukti memainkan peran kritis dalam

mempertahankan viabilitas sel selama proses kriopreservasi. Namun, sifatnya yang kuat memerlukan penanganan yang cermat untuk menghindari dampak toksik terhadap sel.

Selain itu, faktor pertumbuhan seperti Insulin-like Growth Factor 1 (IGF-1) teridentifikasi sebagai determinan utama dalam regulasi dan stimulasi pertumbuhan sel. Hal ini menyoroti pentingnya memilih dan menyesuaikan komponen nutrisi dalam medium kultur sesuai dengan kebutuhan spesifik dari setiap jenis sel line, untuk mendukung proliferasi dan fungsi sel secara optimal. Pemahaman yang mendalam tentang karakteristik unik sel line yang diteliti menjadi kunci dalam menentukan kondisi kultur yang tepat, yang akan mempengaruhi hasil penelitian secara keseluruhan.

Oleh karena itu, kemampuan operator untuk menguasai protokol kultur sel dengan efektif menjadi sangat penting. Keahlian ini mencakup pemilihan medium, penanganan sel, hingga teknik-teknik khusus seperti pasase dan kriopreservasi, semuanya harus dilakukan dengan ketelitian dan perhatian yang tinggi terhadap detail. Kesimpulannya, keberhasilan kultur sel tidak hanya bergantung pada komponen fisik dan kimia dari medium, namun juga pada keahlian dan pengetahuan mendalam dari individu yang melaksanakan proses kultur tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

- Arfian Bela Mahardika, Subagus Wahyuono, Mae Sri Hartati Wahyuningsih. 2016. Sitotoksitas Senyawa Hasil Isolasi Daun *Tithonia Diversifolia* (Hemsley) A. Gray Terhadap Sel T47D, MCF7 dan EVSA-T. *Majalah Farmaseutik*, Vol 12. No. 2
- Isyraqi, N.A., Rahmawati, D. dan Sastyarina, Y., 2020. *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*.
- Lian, M., Shao, S., Liu, M., Shi, Y., Zhang, H. dan Chen, D., 2022. Cell membrane-coated nanoparticles as peroxidase mimetics for cancer cell targeted detection and therapy. *Talanta*, 238, p.123071.
- Ma'at, S., 2019. *Teknik dasar kultur sel*. Airlangga University Press.
- Mahardika, M.P. dan Saifudin, A., 2021. Pemisahan dan Pemurnian Senyawa Sulforaphane pada Brokoli (*Brassica oleracea* L.) dan Aktivitas Sitotoksik terhadap Sel Kanker T47D. *PHARMACY: Jurnal Farmasi Indonesia (Pharmaceutical Journal of Indonesia)*, 18(1), hh.86-98.
- Malik, F., Malaka, M.H., Fristiohady, A., Hamsid, R. dan Gani, A.F., 2021. Cytotoxic Activity Of Kasumba Flower Ethanol Extract Turate (*Carthamus Tinctorius* Linn.) Against The Line Of Cancer Cells t47d Breasts. *Jurnal Farmasi Sains dan Praktis*, hh.189-198.
- Pertiwi, W., Arisanty, D. dan Linosefa, L., 2020. Pengaruh Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* lin) Terhadap Viabilitas Cell Line Kanker Payudara T47D Secara In Vitro. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 9(15).
- Rahmawati, J. dan Maryati, M., 2021. Aktivitas Sitotoksik dan Antiproliferasi Fraksi n-Heksan Biji Al-pukat (*Persea americana* Mill.) Terhadap sel T47D. *Pharmacon: Jurnal Farmasi Indonesia*, 18(1), hh.38-46.
- Suwarna, E.R., 2020. Isolasi Senyawa Aktif Fraksi N-Heksana dari Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) dan Uji Aktivas Antikanker Payudara dalam Formula Sediaan Nanopartikel self-Nano Emulsifying Drug Delivery System (SNEDDS) terhadap Sel T47D dan MCF-7.
- Wardani, T.S. dan Ria, S., 2020. Uji aktivitas antioksidan dengan metode dhhh dan uji sitotoksik terhadap sel kanker payudara t47d pada ekstrak daun kemangi. *Jurnal Farmasetis*, 9(1), hh.51