

DISERTASI

**POTENSI ANTIKANKER NORDENTATIN TERHADAP
APOPTOSIS *CELL LINES HSC-4* KARSINOMA
SEL SKUAMOSA RONGGA MULUT
SECARA *IN SILICO* DAN *IN VITRO***

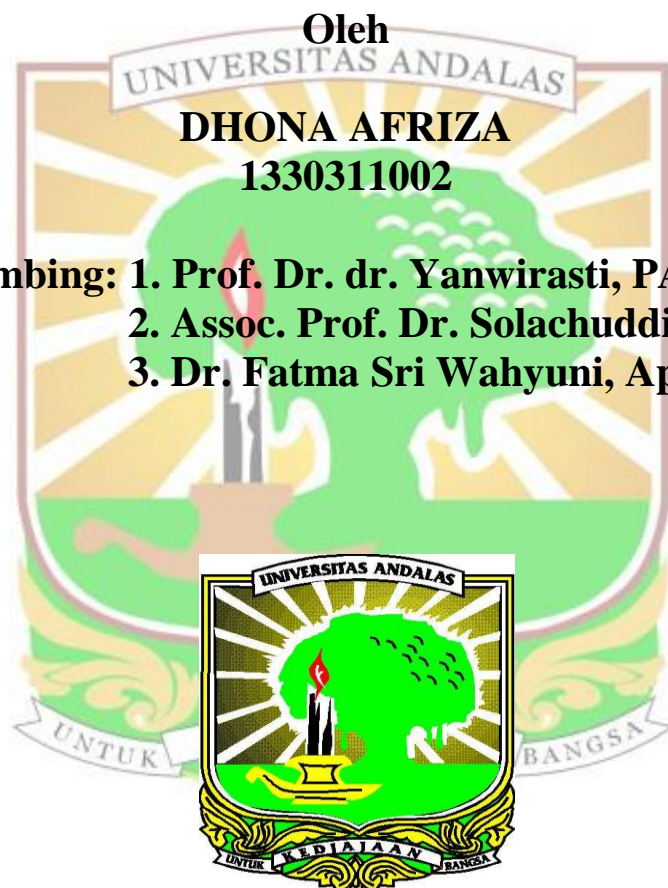
Oleh

UNIVERSITAS ANDALAS

DHONA AFRIZA

1330311002

**Pembimbing: 1. Prof. Dr. dr. Yanwirasti, PA (K)
2. Assoc. Prof. Dr. Solachuddin J.A.I., PhD.
3. Dr. Fatma Sri Wahyuni, Apt**



**PROGRAM PASCASARJANA S3 BIOMEDIK
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG
2018**

ABSTRAK

Oral Squamous Cell Carcinoma (OSCC) termasuk kanker yang paling sering terjadi di dunia, memiliki rekurensi dan angka kematian yang cukup tinggi. Terapi yang diberikan pada kanker mulut sering membawa efek samping yang menimbulkan ketidaknyamanan. Beberapa senyawa alami dilaporkan mempunyai mempunyai efek kemosisensitivitas yang potensial, relatif non-toksik dan murah. Nordentatin merupakan senyawa alami yang berasal dari tumbuhan *Clausena excavata*. Beberapa literatur melaporkan senyawa nordentatin menunjukkan sitotoksisitas yang tinggi melawan sel kanker. Efek nordentatin terhadap gen yang memicu apoptosis sel *OSCC* belum pernah dilaporkan. Mekanisme molekular yang mendasari antikanker nordentatin masih belum jelas. Untuk itu tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi antikanker nordentatin secara *in vitro* dan *in silico* dalam memicu apoptosis baik melalui jalur intrinsik maupun ekstrinsik pada *cell lines HSC-4* Karsinoma Sel Skuamosa Rongga Mulut.

Penelitian ini dilakukan dalam empat tahap, diawali dengan melihat sitotoksisitas nordentatin terhadap *cell lines HSC-4* yang dilanjutkan dengan *flowcytometry* untuk mengetahui pengaruh nordentatin terhadap apoptosis *cell lines HSC-4*. Penelitian ini dilanjutkan dengan analisis *in silico* ligan nordentatin terhadap protein (Bcl-2, EGFR, NFkB, Survivin, Caspase-3 dan Caspase-7) dengan *molecular docking* untuk mengetahui reaksi nordentatin terhadap beberapa protein yang terlibat dalam apoptosis. Kemudian dilakukan pemeriksaan untuk mengetahui aktivitas Caspase-3 dan Caspase-7 *cell lines HSC-4* setelah pemberian nordentatin untuk mengkonfirmasi hasil *molecular docking* yang telah dilakukan.

Hasil penelitian menunjukkan sitotoksisitas nordentatin terhadap sel HSC-4 dengan nilai IC₅₀ sebesar 68 µg/mL. Aktivitas apoptosis *cell lines HSC-4* yang diinduksi dengan nordentatin memiliki presentase yang paling tinggi dibandingkan dengan doksorubisin dan kontrol. Apoptosis yang terjadi pada nordentatin sebesar 47.30%, doksorubisin sebesar 13.71% dan kontrol sebesar 3.73%. Uji statistik menunjukkan hasil yang signifikan dengan $p = 0,008$. Analisis *in silico* yang telah dilakukan untuk mengetahui reaksi yang terjadi antara ligan uji nordentatin dan ligan pembanding doksorubisin dan quercetin dengan protein anti-apoptosis (Bcl-2, EGFR, NFkB, Survivin) dan pro-apoptosis (Caspase-3 dan Caspase-7) menunjukkan nordentatin dapat bereaksi dengan semua protein tersebut dan menghasilkan *binding affinity* yang cukup baik. *Binding affinity* yang dihasilkan antara nordentatin dengan protein apoptosis Bcl-2, EGFR, NFkB, Survivin, Caspase-3 dan Caspase-7 adalah -7.3, -8.2, -6.3, -6.5, -6.6, dan -6.2 kkal/mol masing-masingnya. Hasil analisis aktivitas Caspase-3 dan Caspase-7 *cell lines HSC-4* menunjukkan nordentatin menginduksi aktivitas Caspase -3/-7 lebih baik dibanding doksorubisin dan kontrol. Uji statistik menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan $p=0,000$.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan secara *in silico* dan *in vitro* dapat disimpulkan nordentatin berpotensi sebagai antikanker karena dapat memicu apoptosis melalui jalur intrinsik maupun ekstrinsik *cell lines HSC-4* Karsinoma Sel Skuamosa Rongga Mulut.

Kata kunci: nordentatin, sitotoksisitas, apoptosis, *molecular docking*, kanker mulut

ABSTRACT

Oral Squamous Cell Carcinomas are the most common cancers in the world and has a high rate of recurrence and mortality. The therapy has been given often causes side effects such as discomfort and chemoresistant against cancer cells. Some natural compounds have been reported have a potential chemosensitivity effect, relatively non-toxic and inexpensive. Nordentatin is a natural compound derived from the Clausena excavata plant. Several literatures reported that nordentatin compounds exhibit high cytotoxicity against cancer cells. The effects of nordentatin on genes that trigger apoptosis of OSCC cells have not been reported. The molecular mechanisms underlying the anticancer of nordentatin remain unclear. Therefore, the aim of this study was to investigate the anticancer potential of nordentatin in vitro and in silico in triggering apoptosis either through intrinsic or extrinsic pathways on cell line HSC-4 OSCC.

The study was conducted in four stages, beginning with the cytotoxicity of nordentatin on HSC-4 cell lines, followed by flowcytometry to determine the effect of nordentatin on apoptosis of HSC-4 cell lines. This study was followed by the in silico analysis of nordentatin ligand against apoptosis proteins (Bcl-2, EGFR, NFkB, Survivin, Caspase-3 and Caspase-7) with molecular docking to determine reactions of nordentatin with some proteins involved in apoptosis. Furthermore, a study was conducted to determine the activities of Caspase-3 and Caspase-7 after being treated with Nordentatin to confirm the results of molecular docking that has been done.

The results showed the cytotoxicity of nordentatin against HSC-4 cell lines with IC₅₀ values of 68 µg / mL. Apoptosis that occurred on induction with nordentatin were 47.30%, doxorubicin were 13.71% and control were 3.73%. The statistical test showed significant results with $p = 0.008$. In silico analysis has been performed to determine the reactions between nordentatin, doxorubicin and quercetin with anti-apoptotic proteins (Bcl-2, EGFR, NFkB, Survivin) and pro-apoptosis (Caspase-3 and Caspase-7) suggesting that nordentatin can react with all protein and produce a good affinity binding. Binding affinity between nordentatin and apoptotic proteins Bcl-2, EGFR, NFkB, Survivin, Caspase -3 and Caspase -7 were -7.3, -8.2, -6.3, -6.5, -6.6, and -6.2 kcal / mol respectively. The results of Caspase-3 and Caspase-7 activity analysis showed that Nordentatin induces Caspase -3/-7 activity better than doxorubicin and control. The statistical test shows a significant difference with $p = 0,000$.

Based on the results of research that has been done both in silico and in vitro can be concluded that nordentatin has the potential as an anticancer because it can trigger apoptosis through intrinsic or extrinsic pathway of HSC-4 cell lines Oral Squamous Cell Carcinoma.

Keywords: nordentatin, cytotoxicity, apoptosis, molecular docking, oral cancer