

IDENTIFIKASI GEN TARGET POTENSIAL HONOKIOL DALAM MENINGKATKAN SENSITIVITAS LAPATINIB PADA KANKER PAYUDARA HER2+ YANG RESISTEN TERHADAP LAPATINIB: STUDI BIOINFORMATIKA DAN *IN VITRO*

Irmasari

Program Studi Magister Ilmu Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada

INTISARI

Honokiol (HNK) terbukti menekan aktivitas biologis sel kanker lambung HER2+ *in vitro* melalui regulasi jalur pensinyalan HER2/PI3K/AKT, serta menunjukkan efek sinergis dalam menginduksi apoptosis pada sel kanker payudara SKBR-3 ketika dikombinasikan dengan lapatinib. Penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi gen target potensial HNK (PTGH) dalam meningkatkan sensitivitas lapatinib pada sel kanker payudara HCC1954 yang resisten terhadap lapatinib (LR-HCC1954).

Analisis bioinformatika digunakan untuk mengidentifikasi PTGH pada kanker payudara HER2+ dengan berbagai basis data, diikuti analisis *GO and KEGG pathway* menggunakan DAVID dan WebGestalt. Konstruksi jaringan *protein-protein interaction* (PPI) dilakukan melalui STRING, dan gen hub diidentifikasi menggunakan *plugin* CytoHubba (Cytoscape) berdasarkan *skor degree*. Analisis perubahan genetik dan *prognostic value* dilakukan menggunakan cBioPortal dan KMplotter. Validasi *in vitro* mencakup uji sitotoksik, analisis siklus sel, dan analisis ekspresi gen pada sel LR-HCC1954.

Sepuluh PTGH berhasil diidentifikasi melalui analisis bioinformatika. Validasi *in vitro* memperkuat temuan ini, di mana kombinasi lapatinib dan HNK secara signifikan menurunkan viabilitas sel dengan nilai IC_{50} $4,48 \pm 2,90 \mu M$ dan $42,4 \pm 14,98 \mu M$ secara berurutan dan menunjukkan efek sinergis dalam meningkatkan sensitivitas lapatinib ($CI < 1$). Analisis siklus sel menunjukkan adanya akumulasi sel pada fase G1 serta penurunan fase S, yang disertai dengan penurunan ekspresi mRNA *CCND1* dan *CDKN1A*, serta peningkatan *SOX2* yang mengindikasikan terjadinya *cell cycle arrest*. Hasil qRT-PCR menunjukkan bahwa kombinasi HNK dengan lapatinib meningkatkan ekspresi gen yang terlibat dalam apoptosis (*CASP8*, *GSK3B*, *BAX*) dan pengaturan siklus sel (*SOX2*, *CCND1*, *CDKN1A*), serta menurunkan ekspresi *PTPRC* dan *PTGS2* yang menunjukkan penurunan sinyal inflamasi pro-tumor. Temuan ini menunjukkan bahwa HNK dapat meningkatkan efektivitas lapatinib melalui modulasi berbagai jalur biologis, termasuk regulasi siklus sel, induksi apoptosis, dan penekanan sinyal inflamasi. Secara keseluruhan, hasil ini memberikan wawasan baru tentang potensi HNK dalam meningkatkan sensitivitas lapatinib serta membuka peluang eksplorasi lebih lanjut dalam strategi terapi kombinasi untuk mengatasi resistensi obat pada berbagai jenis kanker.

Kata kunci: Kanker Payudara, Honokiol, PTGH, Bioinformatika, *in vitro*.

IDENTIFICATION OF POTENTIAL TARGET GENES OF HONOKIOL IN ENHANCING LAPATINIB SENSITIVITY IN LAPATINIB- RESISTANT HER2-POSITIVE BREAST CANCER: BIOINFORMATICS AND *IN VITRO* STUDIES

Irmasari

Master of Pharmaceutical Science Program, Faculty of Pharmacy, Universitas
Gadjah Mada

ABSTRACT

Honokiol (HNK) has been shown to suppress the biological activity of HER2+ gastric cancer cells *in vitro* through regulation of the HER2/PI3K/AKT signaling pathway, and exhibits synergistic effects in inducing apoptosis in SKBR-3 breast cancer cells when combined with lapatinib. This study aims to explore potential target genes of HNK (PTGH) that contribute to enhancing lapatinib sensitivity in lapatinib-resistant HCC1954 breast cancer cells (LR-HCC1954).

Bioinformatics analysis was employed to identify PTGHs in HER2+ breast cancer using multiple databases, followed by Gene Ontology (GO) and KEGG pathway enrichment analysis via DAVID and WebGestalt. A protein–protein interaction (PPI) network was constructed using STRING, and hub genes were identified with the CytoHubba plugin in Cytoscape based on degree scores. Genetic alterations and prognostic values were analyzed using cBioPortal and KMplotter. *In vitro* validation included cytotoxicity assays, cell cycle analysis, and gene expression profiling in LR-HCC1954 cells.

Ten PTGHs were successfully identified through bioinformatics analysis. *In vitro* validation supported these findings, where the combination of lapatinib and HNK significantly reduced cell viability with IC₅₀ values of 4.48 μ M and 40.77 μ M, respectively, and demonstrated synergistic effects in enhancing lapatinib sensitivity (CI < 1). Cell cycle analysis revealed accumulation of cells in the G1 phase and a reduction in the S phase, accompanied by decreased mRNA expression of *CCND1* and *CDKN1A*, and increased *SOX2* expression, indicating cell cycle arrest. qRT-PCR results showed that the combination of HNK and lapatinib upregulated genes involved in apoptosis (*CASP8*, *GSK3B*, *BAX*) and cell cycle regulation (*SOX2*, *CCND1*, *CDKN1A*), while downregulating *PTPRC* and *PTGS2*, suggesting suppression of pro-tumor inflammatory signaling. These findings indicate that HNK may enhance the effectiveness of lapatinib through modulation of various biological pathways, including cell cycle regulation, apoptosis induction, and inflammatory signal suppression. Overall, this study provides new insights into the potential of HNK to increase lapatinib sensitivity and offers promising avenues for further exploration of combination therapy strategies to overcome drug resistance in various cancers.

Keywords: Breast Cancer, Honokiol, PTGH, Bioinformatics, *in vitro*.