

ABSTRAK

Latar Belakang : Masalah dalam penanganan kanker adalah kemoterapi yang menimbulkan resistensi terhadap sel kanker, selain itu kemoterapi membutuhkan biaya yang tidak sedikit sehingga menjadi beban berat bagi penderita maupun keluarganya. Beberapa strategi untuk menemukan obat antikanker baru telah dilakukan diantaranya adalah mengisolasi senyawa aktif dari kandungan bahan alam, mencari senyawa untuk menghambat pertumbuhan sel kanker yang lebih spesifik dan sensitif dan mensintesis senyawa organik yang dikenal mempunyai aktivitas antikanker. Salah satu senyawa aktif yang berasal dari alam adalah senyawa flavonoid, diantaranya adalah kalkon, yang banyak ditemukan pada tanaman dan telah diteliti memiliki aktivitas anti kanker. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji efek sitotoksik dan selektivitas senyawa turunan kalkon terhadap sel leukemia HL-60 dan K562; serta mengkaji mekanisme molekuler antikanker senyawa turunan kalkon secara *in vitro* yang potensial melalui aktivitasnya pada penghambatan proliferasi sel, pemacuan apoptosis dan penghambatan siklus sel.

Metode : Uji sitotoksik pada tujuh senyawa turunan kalkon (senyawa 1-7) menggunakan metode MTS (3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-5-(3-kaboksi-toksifenil)-2-(4-sulfofenil)-2H-tetrazolium). Penghambatan proliferasi dan pemacuan apoptosis menggunakan metode Flowcytometry dan pemeriksaan ekspresi protein menggunakan metode ELISA.

Hasil : Senyawa 4 dan 7 menunjukkan sitotoksitas tertinggi terhadap sel K562, dibandingkan imatinib[®] ($p > 0,05$). Senyawa 4 juga menunjukkan sitotoksitas tertinggi terhadap HL-60, diikuti oleh senyawa 1 dan 6 dengan aktivitas lebih tinggi dari Isotretinoin[®] ($p < 0,05$). Berdasarkan uji selektivitas diambil tiga kandidat senyawa yaitu senyawa 4 (E) -1- (4-aminofenil)-3-(2,3 dimetoksifenil)-prop-2-en-1-on dengan nilai SI terhadap K562 sebesar 0,96 dan terhadap HL-60 sebesar 5,26; Senyawa 6 (E)-1-(4-aminofenil)-3-(2,5- dimetoksifenil)-prop-2-en-1-on dengan nilai SI terhadap K562 sebesar 0,3 dan terhadap HL-60 sebesar 1,91 dan senyawa 7 (E) -1- (4-aminofenil) -3-fenilprop-2-en-1-on), dengan nilai SI terhadap K562 sebesar 0,74 dan terhadap HL-60 sebesar 0,45. Nilai SI senyawa 4 terhadap sel HL-60 lebih tinggi (5,26) dibandingkan Isotretinoin[®] (2,61). Semua perlakuan senyawa turunan kalkon menunjukkan indeks apoptosis lebih tinggi dibandingkan kontrol (HL-60 dan K562), senyawa 4, senyawa 6 dan senyawa 7 secara signifikan meningkatkan kaspase-3 yang sebanding dengan Isotretinoin[®] dan Imatinib[®]. Hasil ini menunjukkan bahwa semua perlakuan meningkatkan kaspase-3 sebagai penanda apoptosis pada sel leukemia. Sedangkan pada pemeriksaan analisis siklus sel di semua perlakuan secara signifikan menurunkan kadar Siklin D1 pada sel HL-60 dan K562. Namun, senyawa 4 adalah satu-satunya kalkon yang signifikan berada di fase G2/M sebanding dengan Isotretinoin[®]. Hasil pemeriksaan ekspresi protein FLT-3, kadar terendah dalam perlakuan senyawa 4 terhadap sel HL-60. Senyawa 4 dan senyawa 7 mengakibatkan penurunan kadar AKT terhadap sel K562, hasilnya lebih rendah dibandingkan Imatinib[®]. Pada hasil pemeriksaan ekspresi protein STAT3, senyawa 4 menurunkan kadar STAT-3 pada sel HL-60 sebanding dengan Isotretinoin[®]. Sedangkan pada sel K562 semua perlakuan menunjukkan penurunan STAT3.

Kesimpulan : Senyawa turunan kalkon (senyawa 4, senyawa 6 dan senyawa 7) merupakan senyawa potensial untuk mengobati leukemia. Mekanisme molekuler senyawa turunan kalkon pada sel leukemia, HL-60 dan K562 meliputi : (1) penghambatan jalur PI3K / AKT (2) induksi apoptosis melalui up-regulasi penanda apoptosis, dan (3) penghambatan siklus sel dengan mengatur faktor-faktor yang berhubungan dengan siklus sel.

Kata Kunci : Kalkon, Sitotoksitas, *Selectivity Index*, Apoptosis, Siklus Sel

ABSTRACT

Background: The problem in the treatment of cancer is chemotherapy that causes resistance to cancer cells, besides that chemotherapy requires a lot of money so that becomes a heavy burden for patients and their families. Some strategies to find new anticancer drugs have been done include isolating the active compound from the content of natural ingredients, Looking for compounds to inhibit the growth of more specific and sensitive cancer cells and synthesize organic compounds known to have anticancer activity. One of the active compounds that come from nature is flavonoid compounds, among them is chalcone, which is found in plants and has been studied has anti-cancer activity. This study aims to examine the cytotoxic effects and selectivity of chalcone derivative compounds against HL-60 and K562 leukemia cells; As well as assessing the potential in vitro anticancer molecular mechanism of chalcone derivative through their activity on cell proliferation inhibition, apoptotic triggering and cell cycle inhibition.

Method: The cytotoxic test of seven derivative compounds (compounds 1-7) using MTS method (3- (4,5-dimethylthiazole-2-yl) -5- (3-kaboxy-toxifenyl) -2- (4-sulfophenyl) -2H-tetrazolium). Proliferative inhibition and apoptotic inhibition using Flowcytometry method and protein expression examination using ELISA method.

Result: Compounds 4 and 7 show the highest cytotoxicity of K562 cells, compared to imatinib® ($p > 0.05$). Compound 4 also showed the highest cytotoxicity to HL-60, followed by compounds 1 and 6 with higher activity than Isotretinoin® ($p < 0.05$). Based on the selectivity test, three candidates of the compound were compound 4 (E) -1- (4-aminophenyl) -3- (2,3 dimethoxyphenyl) -prop-2-en-1-on with SI value of K562 of 0.96 and against HL-60 of 5.26; Compound 6 (E) -1- (4-aminophenyl) -3- (2,5-dimethoxyphenyl) -prop-2-en-1-on with an SI value of K562 of 0.3 and to HL-60 of 1, 91 and compound 7 (E) -1- (4-aminophenyl) -3-phenylprop-2-en-1-on), with an SI value of K562 of 0.74 and to HL-60 of 0.45. The SI value of compound 4 against HL-60 cells was higher (5.26) than Isotretinoin® (2.61). All treatments of chalcone derivative compounds showed a higher apoptotic index than control (HL-60 and K562), compound 4, compound 6 and compound 7 significantly improved the Caspase-3 comparable Isotretinoin® and Imatinib®. These results suggest that all treatments improve Caspase-3 as a marker of apoptosis in leukemia cells. While on cell cycle analysis in all treatments significantly decreased levels of Cyclin D1 in HL-60 and K562 cells. However, compound 4 is the only significant arrested in the G2 / M phase comparable to Isotretinoin®. The lowest value of FLT-3 protein expression was obtained in the treatment of compound 4 against HL-60 cells. Compound 4 and Compound 7 resulted in decreased levels of AKT in K562, in which yields were lower than Imatinib®. In STAT3 protein expression, compound 4 with a concentration of lower levels of STAT3 in HL60 which was comparable to Imatinib ® and Isotretinoin®, whilst all treatments in K562 showed a decrease in STAT3, except Isotretinoin®.

Conclusion: we concluded that chalcone derivatives, compound 4, compound 6 and compound 7, may be potential compounds for treating leukemia. The molecular mechanism of chalcone derivatives in leukemia cell line, HL60 and K562 involved: (i) inhibition of PI3K / AKT signaling pathway (ii) induction of apoptosis through up-regulation of apoptotic markers, and (iii) blockade of cell cycle progression by regulating cell cycle-related factor.

Keywords: Chalcone, Cytotoxicity, Selectivity Index, Apoptosis, Cell Cycle,