

**SENARAI SEMAK
NOTIS PENYERAHAN TESIS**

Sila tandakan (✓) pada ruangan 'Semakan Pelajar/Penyelia'. Penyelia Utama/Pengerusi Jawatankuasa Penyeliaan dan Penyelia Bersama/Ahli Jawatankuasa Penyeliaan boleh menandatangani Notis Penyerahan Tesis setelah semua senarai semak dipatuhi oleh pelajar.

| Bil | Aktiviti | Semakan Pelajar | Semakan Penyelia Utama/ Pengerusi Jawatankuasa Penyeliaan | Semakan Penyelia Bersama/ Ahli Jawatankuasa Penyeliaan |
|-----|---|-----------------|---|--|
| 1. | Syarat Penghantaran Tesis (sila lampirkan bukti) Pelajar Program Ijazah Sarjana: 1. Menerbitkan sekurang-kurangnya 1 kertas kerja di dalam jurnal yang diindeks WOS 2. Lulus RARA6014 Kaedah Penyelidikan (Sains & Teknologi) 3. Lulus 2 kredit bagi kursus wajib Institut Pelajar Program Ijazah Doktor Falsafah: 1. Menerbitkan sekurang-kurangnya 2 kertas kerja di dalam jurnal yang diindeks WOS 2. Lulus RARA6014 Kaedah Penyelidikan (Sains & Teknologi) 3. Lulus 2 kredit bagi kursus wajib institut | | | |
| 2. | Pastikan abstrak dalam Bahasa Melayu dan Bahasa Inggeris disediakan. | | | |
| 3. | Pastikan abstrak mengandungi 3 maklumat berikut: a. Objektif dan matlamat kajian; b. Kaedah kajian, teknik dan kegunaannya; c. Penemuan baru seperti teori baru, istilah, tafsiran atau penilaian yang dinyatakan dengan tepat. | | | |
| 4. | Abstrak ditulis menggunakan tatabahasa yang betul dan gaya bahasa yang sesuai untuk penulisan ilmiah | | | |
| 5. | Pastikan borang Notis Penyerahan Tesis lengkap diisi. | | | |

Sila tandatangan setelah senarai semak dipatuhi:

(Tandatangan pelajar)

(Tandatangan Penyelia Utama/
Pengerusi Jawatankuasa Penyeliaan)

(Tandatangan Penyelia Bersama/
Ahli Jawatankuasa penyeliaan)

Tarikh: _____

Tarikh: _____

Tarikh: _____

Disahkan Oleh:

(Pengarah/Penyelaras Siswazah/Eksekutif)

(Tarikh: _____)

INSTITUT SEL FUEL

Pejabat Pentadbiran, Institut Sel Fuel, Aras 4, Bangunan Penyelidikan, Universiti Kebangsaan Malaysia, 43600 UKM Bangi, Selangor Darul Ehsan
Telefon: +603-8911 8532 E-mel: pghisf@ukm.edu.my Laman Web: <http://www.ukm.my/selfuel/>



UNIVERSITI KEBANGSAAN MALAYSIA
The National University of Malaysia

SENARAI SEMAK NOTIS PENYERAHAN TESIS/DISERTASI
CHECK LIST OF NOTICE OF THESIS/DISSERTATION SUBMISSION

| Bil. / No | Perkara/ Items | Senarai Semak (√) Check List |
|----------------------|---|-------------------------------------|
| 1. | Abstrak (Bahasa Melayu) / <i>Abstract (Bahasa Melayu)</i> | |
| 2. | Abstrak (Bahasa Inggeris) / <i>Abstract (English)</i> | |
| 3. | Bukti Penerbitan/ <i>Proof of Publication</i> | |

NOTIS PENYERAHAN TESIS/DISERTASI**NOTICE OF THESIS/DISSERTATION SUBMISSION**Sila hantar borang ini 3 bulan **SEBELUM** anda menyerahkan tesisPlease submit this form at least 3 months **BEFORE** you intend to submit your thesis

| A. MAKLUMAT PELAJAR/STUDENT DETAILS | |
|--|---|
| Nama/ <i>Name</i> | |
| No. Pendaftaran <i>Registration No.</i> | |
| Jabatan <i>Department</i> | |
| Fakulti/Institut <i>Faculty/Institute</i> | |
| Program Pengajian <i>Program of Study</i> | Sarjana / Doktor Falsafah <i>Masters / Doctor of Philosophy</i> |
| Alamat: <i>Address</i> | |
| Mel-e/ <i>Email</i> : | No. Telefon/ <i>Tel.No</i> : |
| B. MAKLUMAT TESIS/THESIS DETAILS | |
| Tajuk Tesis/ <i>Thesis Title</i> : | |
| Tandatangan: <i>Signature</i> | Tarikh/ <i>Date</i> : |
| C. PERAKUAN PENYELIA / APPROVAL FROM SUPERVISOR | |
| Tandatangan: <i>Signature</i> | Tarikh: <i>Date</i> |
| Cop Rasmi: <i>Official Stamp</i> | |
| D. PERAKUAN KETUA JABATAN/KETUA PROGRAM/PENGERUSI PUSAT PENGAJIAN APPROVAL FROM HEAD OF DEPARTMENT/HEAD OF PROGRAM/SCHOOL CHAIRPERSON | |
| Tandatangan: <i>Signature</i> | Tarikh: <i>Date</i> |
| Cop Rasmi: <i>Official Stamp</i> | |
| E. KELULUSAN DEKAN/PENGARAH/ APPROVAL FROM DEAN/DIRECTOR | |
| Tandatangan: <i>Signature</i> | Tarikh: <i>Date</i> |
| Cop Rasmi: <i>Official Stamp</i> | |

XANTHORRHIZOL DARIPADA *Curcuma xanthorrhiza* ROXBURGH MENGARUH APOPTOSIS DALAM SEL KANSER HEPATOMA MANUSIA HEPG2

NAMA PELAJAR (P12345)

ABSTRAK

Xanthorrhizol adalah sejenis seskuiterpenoid yang dipencilkan daripada rizom *Curcuma xanthorrhiza* Roxburgh. Kajian terdahulu pernah melaporkan bahawa sebatian ini berpotensi sebagai agen antikanser. Maka kajian ini dilakukan bertujuan mengkaji keberkesanan xanthorrhizol dalam merencat pertumbuhan sel hepatoma manusia HepG2 dan mekanisme tindakan dalam mengaruh kematian sel tersebut. Pengenalpastian struktur molekul ditentukan dengan menggunakan analisis kromatografi gas-spektrum jisim (GCMS) dan teknik spektroskopi resonans magnet nukleus (NMR). Sel HepG2 diperlakukan dengan xanthorrhizol pada julat kepekatan yang berbeza dan pertumbuhan sel ditentukan melalui kaedah pewarnaan sel menggunakan sulforhodamin B (SRB). Perlakuan dengan xanthorrhizol selepas 48 jam merencat pertumbuhan sel HepG2 bersandaran dengan peningkatan kepekatan dengan nilai GI_{50} bersamaan dengan $41.38 \pm 2.64 \mu\text{M}$. Perencatan pertumbuhan sel HepG2 adalah disebabkan oleh kesan sitotoksik xanthorrhizol. Lantaran itu, didapati perlakuan xanthorrhizol mengakibatkan kematian sel HepG2 secara apoptosis apabila morfologi sel diceraap melalui asai pewarnaan nukleus Hoechst 33258 dan disahkan melalui analisis mikroskop imbasan elektron. Sejajar dengan hasil pengasaian didapati aras apoptosis meningkat secara signifikan berkadaran dengan kepekatan xanthorrhizol. Hasil kajian menggunakan kaedah pengasaian aktiviti kaspase mendapati interaksi xanthorrhizol pada reseptor dalam sel HepG2 mengaktifkan kaspase-8. Kaspase-8 yang aktif kemudiannya memangkinkan pemprosesan BID kepada tBID dan seterusnya ditranslokasi ke mitokondria untuk mengaktifkan kedua-dua protein proapoptotik, iaitu BAX dan BAK. Namun demikian, aras pengeksresan kedua-dua protein tersebut tidak berubah dan berada pada aras dasar mencadangkan kemungkinan pengaktifan melalui pengoligomeran yang menjurus kepada apoptosis. Pemblotan western mendapati pengeksresan kedua-dua protein antiapoptotik BCL-2 dan BCL-X_L menurun secara signifikan selepas diperlakukan dengan xanthorrhizol dan arasnya kekal rendah berbanding dengan kawalan di sepanjang eksperimen. Pengurangan aras pengeksresan protein antiapoptotik BCL-2 dan BCL-X_L ini secara tidak langsung meningkatkan nisbah protein proapoptotik kepada protein antiapoptotik yang seterusnya menyebabkan penyahkutuban membran mitokondria, lantas mengaruh apoptosis. Pengasaian enzim mendapati perlakuan xanthorrhizol ke atas sel meningkatkan aktiviti kaspase-9 dan kaspase-3 secara signifikan manakala kaspase-2 tidak diaktifkan. Kaspase-3 yang aktif berfungsi menyahaktifkan PARP-1 dan DFF45/ICAD mengakibatkan DNA terfragmentasi seperti yang dikesan melalui analisis bertangga DNA. Kesimpulannya, xanthorrhizol berupaya mengaruh kematian sel HepG2 melalui mekanisme apoptosis dan bukan nekrosis yang melibatkan protein famili BCL-2 dan pengaktifan kasked kaspase.

Tandatangan Penyelia
(NAMA PENYELIA)

Tandatangan Pelajar
(NAMA PELAJAR)

XANTHORRHIZOL FROM *Curcuma xanthorrhiza* ROXBURGH MEDIATED
APOPTOSIS IN HUMAN HEPATOMA CELLS HEPG2

STUDENT NAME (P12345)

ABSTRACT

Xanthorrhizol is a sesquiterpenoid isolated from the rhizome of *Curcuma xanthorrhiza* Roxburgh. Previous reports have noted its potential use as an anticancer agent. In this study, the purported efficacy of xanthorrhizol to inhibit cell growth and its mechanism in eliciting cell death was evaluated on HepG2 cells. The molecular structure was resolved by gas chromatography-mass spectrum (GCMS) analysis and nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy. HepG2 cells were treated with xanthorrhizol at various concentrations and cell growth was assayed by a dye inclusion method with sulforhodamine B (SRB). Treatment with xanthorrhizol decreased HepG2 cells growth in a concentration dependent manner with a GI₅₀ value of 41.38±2.64 μM 48 hours post-treatment. The reduced cell count suggested a possible cytotoxic effect, which was confirmed when apoptotic cell death was recorded by the Hoechst 33258 nuclear staining assay and evaluated by scanning electron microscopy. In concordance with these results, the apoptosis levels were found to increase significantly in a dose-dependent manner. Caspase activity assay revealed that interaction of xanthorrhizol with its conjugate receptor induces caspase-8 activation. Activated caspase-8 then catalyzes the truncation of BID into tBID and migrates to mitochondria to facilitate the activation of both pro-apoptotic BAX and BAK proteins. However, both proteins expression were kept at basal level, suggesting a possible activation via oligomerization, favouring apoptosis. Western blotting analysis revealed that both the anti-apoptotic BCL-2 and BCL-X_L proteins expression levels decreased after treatment with xanthorrhizol and remained lower than controls throughout the experiment resulting in a shift in the anti-apoptotic protein to pro-apoptotic protein ratio which eventually induced disruption of the mitochondrial membrane potential thus inducing apoptosis. Enzyme assays showed that xanthorrhizol treatment of cells caused significant increment in caspase-9 and caspase-3 activities whilst that of caspase-2 was unaffected. Subsequently activate caspase-3 mediates PARP-1 and DFF45/ICAD processing to account for the DNA fragmentation as detected using DNA laddering analysis. Taken together, these results suggest that xanthorrhizol mediated an apoptotic mechanism instead of necrosis in HepG2 cells, involving BCL-2 family proteins and activation of the caspase cascade.

Supervisor Signature
(SUPERVISOR NAME)

Student Signature
(STUDENT NAME)