

DISERTASI

EFEK PROTEKSI CAPSAICIN PADA EKSPRESI *PROTEIN KINASE (AKT1) DAN MITOGEN-ACTIVATED PROTEIN KINASE 1 (MAPK1)* PADA *HEPAR MENCIT (Mus musculus)* YANG DIINDUKSI AFLATOKSIN B1 (AFB1)

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS



Oleh

MOHAMMAD SUKMANADI
NIM 061727117303

**PROGRAM DOKTOR
PROGRAM STUDI SAINS VETERINER
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2020**

EFEK PROTEKSI CAPSAICIN PADA EKSPRESI *PROTEIN KINASE (AKT1)* DAN *MITOGEN-ACTIVATED PROTEIN KINASE 1 (MAPK1)* PADA *HEPAR MENCIT (Mus musculus)* YANG DIINDUKSI AFLATOKSIN B1 (AFB1)

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS

DISERTASI

untuk memperoleh gelar Doktor dalam Program Studi Sains Veteriner pada
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya

Oleh

MOHAMMAD SUKMANADI
NIM 061727117303

**PROGRAM DOKTOR
PROGRAM STUDI SAINS VETERINER
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2020**

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam Disertasi berjudul:

Efek Proteksi Capsaicin Pada Ekspresi *Protein Kinase* (Akt1) Dan *Mitogen-Activated Protein Kinase 1* (Mapk1) Pada *Hepar Mencit* (*Mus musculus*) Yang Diinduksi Aflatoksin B1 (AFB1).

Tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar Doktor di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surabaya, 31 Agustus 2020



Mohammad Sukmanadi
NIM 061727117303

Lembar Pengesahan

DISERTASI INI TELAH DISETUJUI
Tanggal 31 Agustus 2020

Oleh:

Promotor,



Prof. Sri Agus Sudjarwo, drh., Ph. D.
NIP. 195609041984031004

Ko-Promotor,



Dr. Mustofa Helmi Effendi, drh., DTAPH.
NIP. 196201151988031002

Mengetahui,

Ketua Program Studi Program Doktor Sains Veteriner
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga



Prof. Dr. Sri Pantia Madvawati, drh., M.Si.
NIP. 196310021989032003

Disertasi ini telah diuji dan dinilai oleh Panitia Penguji
Program Doktor Sains Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Airlangga
Pada Tanggal: 31 Agustus 2020

Penetapan Panitia Penguji Disertasi

Telah diuji pada Tanggal : 31 Agustus 2020

PANITIA PENGUJI DISERTASI

1. Prof. Dr. Pudji Srianto, drh., M.Kes. (Ketua)
2. Prof. Sri Agus Sudjarwo, drh., Ph.D. (Promotor)
3. Mustofa Helmi Effendi, drh., DTAPH. (Ko-Promotor)
4. Prof. Dr. Sarmanu, drh., MS. (Anggota)
5. Prof. Dr. Aulanni'am., drh., DES. (Anggota)
6. Prof. Dr. Sri Pantja Madyawati, drh., M.Si. (Anggota)
7. Prof. Dr. Mirni Lamid, drh., MP. (Anggota)
8. Dr. Hani Plumeriastuti, drh., M.Kes. (Anggota)

SK Dekan Tentang Panitia Penguji Disertasi
No. 130/UN3. 1.6 /KD/2020
Tanggal : 03 Agustus 2020

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah syukur kehadirat Allah SWT atas anugerah dan ridho-Nya yang telah dilimpahkan serta sholawat salam pada Rasulullah Sayyidina Muhammad SAW sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikan Disertasi dengan judul : **Efek Proteksi Capsaicin Pada Ekspresi *Protein Kinase (Akt1)* Dan *Mitogen-Activated Protein Kinase 1 (Mapk1)* Pada *Hepar Mencit (Mus musculus)* Yang Diinduksi Aflatoksin B1 (AFB1).**

Pada kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya juga saya haturkan kepada :

Rektor Universitas Airlangga, Prof. Dr. Mohammad Nasih, SE., M.T., Ak., CMA yang memberi ijin dan kesempatan kepada penulis untuk mengikuti pendidikan Program Doktor pada Program Studi S3 Sains Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Prof. Dr. Pudji Srianto, drh., MKes., Koordinator Program Studi S3 Sains Veteriner: Prof. Dr. Sri Pantja Madyawati, drh., M.Si. atas kesempatan mengikuti pendidikan di Program Studi S3 Sains Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Prof. Sri Agus Sudjarwo, drh., PhD. selaku Promotor dan Dr. Mustofa Helmi Effendi, drh., DTAPH. Selaku ko-Promotor atas nasehat dan bimbingannya sampai dengan selesainya naskah disertasi ini.

Prof. Dr. Pudji Srianto, drh., M.Kes. Selaku ketua penguji, Prof. Sri Agus Sudjarwo, drh., PhD., Dr. Mustofa Helmi Effendi, drh., DTAPH., Prof. Dr. Aulanni'am., drh., DES., Prof. Dr. Sri Pantja Madyawati, drh., M.Si, Prof. Dr. Mirni Lamid, drh., MP., Dr. Hani Plumeriastuti, drh., M.Kes., Dr. Nenny Harijani, drh., M.Si. selaku anggota penguji.

Seluruh Staf pengajar S3 Sains Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas wawasan keilmuan selama mengikuti pendidikan Doktor di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Ketua Departemen Kedokteran Dasar Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Dr. Nove Hidajati, drh., M.Kes. serta para sejawat Prof. Dr. Mochammad Lazuardi, drh., M.Si., Dr. Lilik Maslachah, drh., M.Kes., Dr. Rahmi Sugihartuti, drh., M.Kes., dengan penuh persaudaraan dan kesabaran selalu mengingatkan “ *kapan lulus?*” dengan tulus banyak membantu *supporting* selama menyelesaikan pendidikan program doktor.

Keluarga tercinta istri tercinta Endah Wahyu Arieningsih, S.Psi. dan anak-anakku tersayang Muhammad Varazdaq, Muhammad Zyky Karamy dan Muhammad Ravy Nasrulloh yang telah memberikan segalanya, suasana atmosfir indah, bantuan doa, dorongan dan semangat. Ibundaku (Almh) Hj. Nurhayati dan Ayahandaku H. Musyafak Alwi, Ibu mertua (Almh) Hj. A.Soepadmi dan H. Ashari yang menghiasi suasana batin hingga bisa hadir sebagai insan yang mengalirkan doa amal sholeh dan ilmu yang bermanfaat, amiin.

Penulis ucapkan terima kasih pada semua pihak yang telah membantu dalam terselesaikannya disertasi ini dan berharap disertasi ini akan dapat memberikan manfaat bagi masyarakat, khususnya bagi pengembangan dunia pendidikan dan kesehatan masyarakat veteriner. Semoga Allah SWT melimpahkan taufik dan hidayah-Nya kepada semua pihak yang telah membantu penyelesaian disertasi. Amiin Ya Rabbal Alamin.

Surabaya, 31 Agustus 2020

Mohammad Sukmanadi

RINGKASAN

Efek Proteksi Capsaicin Pada Ekspresi *Protein Kinase (Akt1)* Dan *Mitogen-Activated Protein Kinase 1 (Mapk1)* Pada Hepar Mencit (*Mus musculus*) Yang Diinduksi Aflatoksin B1 (AFB1).

Oleh
Mohammad Sukmanadi

Latar Belakang: Paparan aflatoksin B1(AFB1) ke dalam tubuh mengakibatkan terjadinya respons toksik. Konsep *dose-response relationship* mengemukakan hubungan dosis paparan suatu toksik dengan respons toksik yang diakibatkannya. Pengaruh aflatoksikosis pada binatang dapat bersifat akut, subakut dan kronis. Pengaruh akut maupun kronis sasaran (target) utama efek toksisitas adalah hati (Amdar, *et al.*; Ballantyne, *et al.*, dalam Hastuti, 2006 ; Susy, 2006). Peneliti melakukan analisis bioinformatika berdasarkan interaksi dan prediksi identifikasi panel gen protein yang digunakan sebagai target penelitian untuk mengevaluasi efek dari kerusakan yang disebabkan oleh AFB1 dan kapasitasnya menginduksi inisiasi jejas hepatic (Shi *et al.*, 2016). Penelitian Lin (2013), menyimpulkan bahwa Capsaicin mempunyai aktivitas : 1). Menginduksi apoptosis sel, 2). Menginduksi henti siklus sel fase G2/M, 3). Menurunkan regulasi faktor ekspresi transkripsi; Penghambatan *growth factor signal transduction pathways*. **Tujuan:** Membuktikan capsaicin menghambat ekspresi protein target AKT1 dan MAPK1 pada mencit karena induksi AFB1 secara *in silico*, secara *in vivo* diamati dengan skoring menggunakan *Immunohistochemical* (IHC) dan histopatologis hepar pewarnaan *hematoxylin-eosin* (HE). **Metode:** Teknologi bioinformatika dengan pemahaman biologi dikaitkan basis data (*big data*), *Molecular docking (In silico)* mengetahui pola interaksi, afinitas, dan potensi aktivitas senyawa kimia berinteraksi dengan protein target Pengikatan protein-ligan terjadi saat perubahan energi bebas Gibbs (ΔG). IHC dengan menghitung jumlah sel mengalami transformasi menggunakan antibodi monoklonal dan patogenesis hepar dengan pemberian skor pada jejas hepatic (kongesti, degenerasi dan nekrosis) menggunakan preparat pewarnaan HE. **Hasil:** Data analisis *in silico* terdiri dari prediksi protein target, analisis interaksi protein, pemodelan homologi, *molecular docking*, interaksi protein-ligan dan visualisasi molekuler. Hasil prediksi pengikatan AFB1 *Mus musculus* menunjukkan ekspresi yang tinggi pada protein target AKT1 dan MAPK1. Penambatan molekul energi bebas *Gibbs* bernilai negatif dianggap baik, diuji melekat sangat baik pada reseptornya dengan visualisasi *virtual 3D*. Hasil skoring ekspresi dengan *Immunohistochemistry* dan skoring jejas hepatic secara histopatologis dengan pewarnaan HE menunjukkan bahwa senyawa capsaicin dalam cabai (*Capsicum Annum L*) secara sinergis menghambat regulasi sel melalui jalur pensinyalan AKT 1 dan MAPK 1 berpotensi sebagai hepatoprotektor. **Kesimpulan:** Data menunjukkan capsaicin dalam cabai (*Capsicum Annum L*) secara sinergis dapat menghambat regulasi sel melalui jalur pensinyalan AKT 1 dan MAPK 1 mempotensiasi aksi hepatotoksitas secara *in silico* dan secara *in vivo* terjadi efek proteksi capsaicin terhadap induksi AFB-1 dibuktikan melalui pencegahan terjadinya jejas hepatic sehingga capsaicin memiliki potensi kandidat *herbal medicine* sebagai hepatoprotektor.

SUMMARY

Protection Effects of Capsaicin on the Expression of Protein Kinase (Akt1) and Mitogen-Activated Protein Kinase 1 (Mapk1) in the Liver of Mice (*Mus musculus*) Induced by Aflatoxin B1 (AFB1).

By
Mohammad Sukmanadi

Background: Exposure to aflatoxin B1 (AFB1) into the body results in a toxic response. The concept of dose-response relationship describes the relationship between the dose of exposure to a toxic and the toxic response it causes. The effects of aflatoxicosis in animals can be acute, subacute, and chronic. The main target (target) effect of toxicity is the liver (Amdar, et al.; Ballantyne, et al, in Hastuti, 2006; Susy, 2006). Researchers conducted a bioinformatics analysis based on the interaction and prediction of identification of protein gene panels used as research targets to evaluate the effects of damage caused by AFB1 and its capacity to induce hepatic injury initiation (Shi et al., 2016). Research Lin (2013), concluded that Capsaicin has activities: 1). Induce cell apoptosis, 2). Induces a cell cycle stop of the G2 / M phase, 3). Reducing regulation of transcription expression factors; inhibiting growth factor signal transduction pathways. **Objective:** Proving capsaicin inhibits the expression of AKT1 and MAPK1 target proteins in mice due to AFB1 induction in silico, in vivo observed by scoring using Immunohistochemical (IHC) and histopathological hepatic staining hematoxylin-eosin (HE). **Methods:** Bioinformatics technology with an understanding of biology linked to databases (big data), Molecular docking (In silico) to determine the interaction pattern, affinity, and potential activity of chemical compounds interacting with target proteins Protein-ligand binding occurs when changes in Gibbs free energy (ΔG). IHC by counting the number of transformed cells using monoclonal antibodies and liver pathogenicity by scoring hepatic lesions (congestion, degeneration, and necrosis) using HE staining preparations. **Results:** Data analysis in silico consisted of target protein prediction, protein interaction analysis, homology modeling, molecular docking, protein-ligand interactions, and molecular visualization. The prediction results of the binding of AFB1 *Mus musculus* showed a high expression of the target protein AKT1 and MAPK1. The tethering of negative Gibbs free energy molecules was considered good, tested for adherence to its receptors very well with 3D virtual visualization. The results of expression scoring with Immunohistochemistry and histopathological scaling of hepatic lesions with HE staining showed that the capsaicin compounds in chili peppers (*Capsicum Annum L*) synergistically inhibited regulation cell through AKT 1 and MAPK 1 signaling pathways as potential hepatoprotective. **Conclusion:** The data show that capsaicin in chilies (*Capsicum Annum L*) can synergistically inhibit regulation cell through the AKT 1 and MAPK 1 signaling pathways, potentiating the hepatotoxicity action in silico and in vivo the protective effect of capsaicin against AFB-1 induction is proven by preventing injury. hepatic, so capsaicin has a potential candidate for herbal medicine as a hepatoprotection.