

**CYTOTOXICITY AND MECHANISMS OF  
CELL DEATH OF SELECTED MARINE SPONGES  
ON HUMAN BREAST CANCER CELL LINE,  
MCF-7**

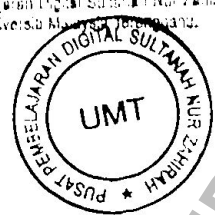
**TUTI HUDAYAH**

**MASTER OF SCIENCE  
UNIVERSITI MALAYSIA TERENGGANU**

**2013**

1100090803

Pusat Pembelajaran Digital Sultanah Nur Zahirah (UMD) Universiti Malaysia Terengganu



tesis  
RC 268.44 .B73 H5 2013



1100090803  
Cytotoxicity and mechanisms of cell death of selected marine sponges on human breast cancer cell line, MCF-7 / Tuti Hidayah

PUSAT PEMBELAJARAN DIGITAL SULTANAH NUR ZAHIRAH  
UNIVERSITI MALAYSIA TERENGGANU (UMT)  
21030 KUALA TERENGGANU

1100090803	

Lihat Sebelah

**HAK MILIK**  
PUSAT PEMBELAJARAN DIGITAL SULTANAH NUR ZAHIRAH

PUSAT PEMBELAJARAN DIGITAL SULTANAH NUR ZAHIRAH

**CYTOTOXICITY AND MECHANISMS OF  
CELL DEATH OF SELECTED MARIN SPONGES  
ON HUMAN BREAST CANCER CELL LINE,  
MCF-7**

**TUTI HUDAYAH**

**Thesis Submitted in Fulfillment of the Requirement for  
the Degree of Master of Science in the Faculty of  
Science and Technology**

**Universiti Malaysia Terengganu**

**May 2013**

This Thesis are Dedicated to:

- ❖ Prof. Dr. Tengku Sifzizul Tengku Muhammad
- ❖ Assoc. Prof. Dr. Mariam Taib
- ❖ Assoc. Prof. Dr. Noraznawati Ismail
- ❖ My dear husband Muhammad Iqbal Al-Banna and my lovely daughter  
Annisa Tantina Zahra
- ❖ My parents and my parents in law

Abstract of thesis presented to the senate of University Malaysia Terengganu  
in fulfilment of the requirement for the degree of Master of Science

**CYTOTOXICITY AND MECHANISMS OF CELL DEATH OF SELECTED  
MARINE SPONGES ON HUMAN BREAST CANCER CELL LINE, MCF-7**

**TUTI HUDAYAH**

**May 2013**

**Main Supervisor : Professor Dr. Tengku Sifzizul Tengku Muhammad**

**Co-Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Mariam Taib  
Assoc. Prof. Dr. Noraznawati Ismail**

**Faculty : Science and Technology**

Breast cancer is the most frequently diagnosed cancers among women worldwide. However, to date, research is still ongoing to find alternative drugs to the current chemotherapeutic drugs available in the market. Marine environment offers vast diversity of living organisms that provide compounds with impressive structural diversity, highly specific biological activities and drug-like properties. Therefore, the main aim of this study was to determine the cytotoxic effects and mechanisms of cell death exerted by marine sponges on human breast cancer cell line, MCF-7. In this study, six marine sponges from four species, namely *Aaptos* sp., *Stryphuous ponderosus*, *Theonella* sp., and *Xestospongia* sp., were used. From six methanol extracts prepared, four extracts produced good cytotoxicity effects with IC<sub>50</sub> values of less than 30 µg/ml in the order of *Aaptos* sp. A1 > *S. ponderosus* SPI > *Theonella* sp. T1 > *Theonella* sp T2. Subsequently, due to the lack of studies on *S. ponderosus*, the species was selected for further screening and determining of mode of action. Butanol and diethyl ether extracts also exhibited good cytotoxicity effects on MCF-7 cell line with butanol extract produced the most potent activity (IC<sub>50</sub> at 7.74 µg/ml) followed by crude methanol and diethyl ether extracts (IC<sub>50</sub> at 8.49 µg/ml and 26.3

µg/ml, respectively). Determination of apoptotic cell death using The DeadEnd™ Colometric Apoptosis Detection System (Promega, USA) showed all three extracts induced apoptosis which indicate apoptosis was the main mode of cell death by the extracts towards the MCF-7 cell line used in this study. The level of caspase-3 was found to increase in cells treated with all three extracts, albeit at different levels, suggesting apoptosis was mediated by the activation of caspase-3. Interestingly, crude methanol extract induced higher level of caspase-8 as compared to caspase-9, by contrast, the level of caspase-9 was higher than to that of caspase-8 when the cells were treated with butanol extract, suggesting that crude methanol and butanol extracts induced apoptosis via intrinsic and extrinsic pathways, respectively, as the main pathway. However, no significant difference was observed on the levels of those two caspases in diethyl ether extract-treated cells indicating that both pathways may play similar role in inducing apoptosis in human breast cancer, MCF-7, cell line. Therefore, it is interesting to note that methanol, butanol and diethyl ether extracts of *S. ponderosus* may have the potential to be developed further as candidates for anti-cancer drugs for the treatment of breast cancer.

Abstrak thesis yang dikemukakan kepada Senat Universiti Malaysia Terengganu  
Sebagai memenuhi keperluan untuk ijazah Master

**SITOTOKSISITI DAN MEKANISME KEMATIAN SEL DARIPADA SPANS  
LAUT TERPILIH KE ATAS SEL KANSER PAYUDARA MANUSIA,  
MCF-7**

**TUTI HUDAYAH**

**May 2013**

**Penyelia Utama : Professor Dr. Tengku Sifzizul Tengku Muhammad**

**Penyelia Bersama : Assoc. Prof. Dr. Mariam Taib  
Assoc. Prof. Dr. Noraznawati Ismail**

**Fakulti : Sains dan Teknologi**

Kanser payudara adalah kanser yang paling kerap didiagnosi di kalangan wanita di seluruh dunia. Walau bagaimanapun, sehingga kini, penyelidikan masih berterusan untuk mencari ubatan alternatif sebagai agen kemoterapeutik semasa yang terdapat di pasaran. Persekitaran marin menawarkan kepelbagaian organisma hidup yang luas yang memberikan sebatian dengan kepelbagaian struktur yang mengagumkan, aktiviti biologi yang sangat spesifik dan ciri ubatan. Oleh itu, matlamat utama kajian ini adalah untuk menentukan kesan sitotoksisiti dan mekanisme kematian sel yang dihasilkan oleh span laut ke atas sel kanser payudara manusia, MCF-7. Dalam kajian ini, enam span marin dari empat spesies telah digunakan, iaitu *Aaptos* sp., *Stryphuous ponderosus*, *Theonella* sp., dan *Xestospongia* sp. Daripada enam ekstrak metanol yang disediakan, empat ekstrak menghasilkan kesan sitotoksiti yang baik dengan nilai  $IC_{50}$  kurang daripada 30  $\mu\text{g/ml}$  dengan urutan *Aaptos* A1 > *S. ponderosus* SP1 > *Theonella* T1 > *Theonella* T2. Seterusnya, disebabkan kekurangan kajian ke atas *S. ponderosus*, spesies ini telah dipilih untuk menjalani ujian saringan lanjut dan untuk menentukan tindakan mod oleh ekstrak. Ekstrak butanol dan dietil

eter yang didapati memberikan kesan sitotoksiti yang baik ke atas sel MCF-7 dengan ekstrak butanol menghasilkan aktiviti yang paling kuat pada ( $IC_{50}$  7.74  $\mu\text{g/ml}$ ) yang diikuti oleh ekstrak metanol mentah dan dietil eter pada ( $IC_{50}$  8.49  $\mu\text{g/ml}$  dan 26.3  $\mu\text{g/ml}$ , masing-masing). Penentuan kematian sel apoptotik menggunakan Sistem Pengesanan Apoptosis DeadEnd<sup>TM</sup> Colometric (Promega, USA) menunjukkan ketiga-tiga ekstrak menyebabkan apoptosis yang menunjukkan apoptosis adalah mod utama kematian sel MCF-7 dalam kajian ini. Tahap caspase-3 telah didapati meningkat pada sel yang dirawat dengan ketiga-tiga ekstrak, walaupun pada tahap yang berbeza, mencadangkan apoptosis telah diperentarkan oleh pengaktifan caspase-3. Menariknya, ekstrak metanol mentah mengaruh tahap caspase-8 yang lebih tinggi berbanding caspase-9, sebaliknya, tahap caspase-9 adalah lebih tinggi daripada caspase-8 apabila sel dirawat dengan ekstrak butanol, mencadangkan bahawa ekstrak metanol dan butanol mengaruh apoptosis melalui laluan intrinsik dan ekstrinsik, masing-masing, sebagai laluan utama. Walau bagaimanapun, tiada perbezaan ketara yang diperhatikan ke atas kedua-dua caspase pada sel-sel yang dirawat dengan ekstrak dietil eter yang menunjukkan bahawa kedua-dua laluan boleh memainkan peranan yang sama dalam mendorong apoptosis pada sel kanser payudara manusia, MCF-7. Oleh sebab itu, adalah suatu yang menarik bahawa ekstrak metanol mentah, butanol dan dietil eter *S. ponderosus* mungkin mempunyai potensi untuk dibangunkan lagi sebagai calon ubat-ubat anti kanser untuk rawatan kanser payudara.