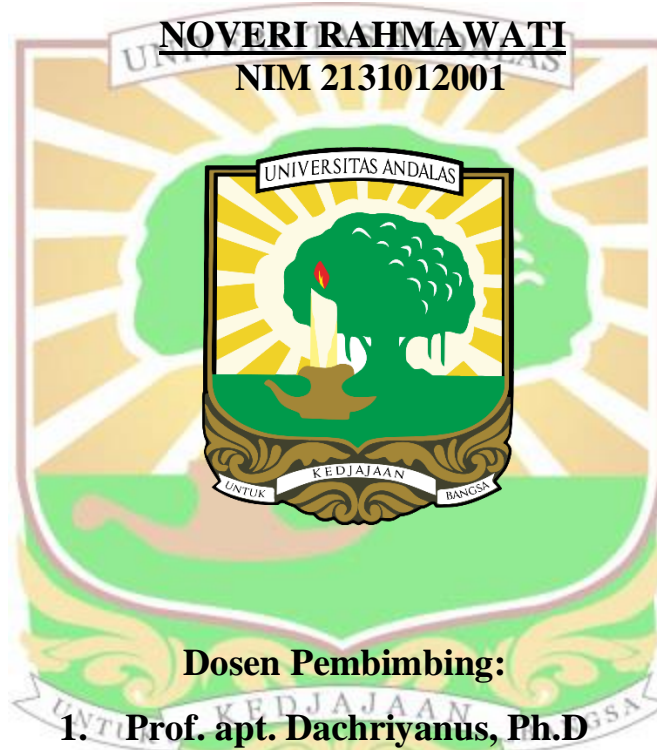


**KAJIAN AKTIVITAS SITOTOKSIK BEBERAPA TUMBUHAN  
*Uncaria* spp ASAL RIAU PADA SEL KANKER PAYUDARA:  
ISOLASI, *MOLECULAR DOCKING* DAN STUDI *IN VITRO* TERPENOID  
DARI TUMBUHAN *Uncaria nervosa* Elmer.**

**OLEH:**

**NOVERI RAHMAWATI**  
**NIM 2131012001**



**Dosen Pembimbing:**

- 1. Prof. apt. Dachriyanus, Ph.D**
- 2. Prof. Dr. Nor Hadiani Ismail**
- 3. Prof. apt. Fatma Sri Wahyuni, Ph.D**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS ANDALAS  
PADANG  
2024**

## ABSTRAK

### **KAJIAN AKTIVITAS SITOTOKSIK BEBERAPA TUMBUHAN *Uncaria* spp ASAL RIAU PADA SEL KANKER PAYUDARA: ISOLASI, MOLECULAR DOCKING DAN STUDI IN VITRO TERPENOID DARI TUMBUHAN *Uncaria nervosa* Elmer.**

Penyakit kanker payudara adalah salah satu penyakit yang paling banyak ditemukan pada wanita saat ini. Kanker payudara terjadi karena kerusakan pada gen pertumbuhan dan diferensiasi sehingga sel tersebut bisa tumbuh dan berkembang tanpa dapat dikendalikan. Penatalaksanaan kanker seperti pemberian obat antikanker, kemoterapi, penyinaran dengan sinar x dan tindakan operasi, memerlukan biaya yang mahal, dan tingkat kesembuhan pasien setelah melalui tahapan-tahapan ini juga tergolong rendah. Pengobatan ini masih belum spesifik karena dapat menyebabkan sel normal lainnya juga ikut terbunuh, sehingga perlu dikembangkannya obat baru yang mempunyai efek terapi selektif sebagai obat antikanker dengan menggali senyawa-senyawa alam yang berasal dari tumbuhan, diantaranya adalah *Uncaria nervosa* Elmer. Tumbuhan *Uncaria nervosa* Elmer adalah tumbuhan yang merupakan kearifan lokal Propinsi Riau dan secara tradisional, tumbuhan ini digunakan untuk mengatasi penyakit kanker.

Penelitian ini dilakukan dengan tahapan yaitu skrining aktivitas sitotoksik 4 spesies *Uncaria* spp pada sel kanker payudara T47D, isolasi dengan metoda *bioassay guided isolation* menggunakan pendekatan profil metabolit, studi *molecular docking* senyawa murni, penentuan aktivitas sitotoksik, apoptosis dan ekspresi protein senyawa murni. Penentuan aktivitas sitotoksik dilakukan dengan menggunakan metoda MTT, penentuan profil metabolit menggunakan LCMS/MS, pemurnian senyawa dilakukan dengan menggunakan *recycling preparative* HPLC, induksi apoptosis dilakukan dengan metoda *double staining* dan penentuan ekspresi protein Bcl-2 dilakukan dengan menggunakan metoda *Western blot*.

Pada penelitian yang telah dilakukan, diperoleh hasil bahwa ekstrak etanol daun *Uncaria nervosa* Elmer mempunyai aktivitas sitotoksik yang paling poten pada sel kanker payudara T47D. Ekstrak ini ini diprediksi mengandung 9 senyawa yang merupakan golongan alkaloid, asam lemak, triterpenoid dan diterpenoid. Ekstrak etanol difraksinasi dan fraksi etil asetat dipilih untuk dilanjutkan proses isolasinya. Hasil isolasi diperoleh enam isolat yang merupakan golongan alkaloid, triterpenoid dan steroid, dan isolat yang dielusidasi adalah isolat nomor tiga dan empat yang merupakan senyawa asam betulinat dan asam ursolat. Kedua senyawa ini dilakukan penentuan aktivitas sitotoksik, induksi apoptosis dan ekspresi protein Bcl-2 pada sel kanker payudara MCF-7/HER2.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan ekstrak etanol daun *Uncaria nervosa* Elmer mempunyai mempunyai aktivitas sitotoksik paling poten pada sel kanker payudara T47D. Profil metabolit yang diprediksi terdapat pada ekstrak etanol daun *Uncaria nervosa* Elmer adalah nicometh, 3-methoxy-2-methylpyridine, 1,1-dichloro-1-nitrosopropane, glukosol, asam betulonat, asam ursolat, 7-methyl-N-[6-[(7-methyl-6-oxooctanoyl) amino]

hexyl]-6-oxononanamide, nervisterol dan 3,5,10-tris(acetyloxy)-2-hydroxy-4,14,16,16-tetramethyl-8-methylidene-13-oxo-15oxatetracyclo[9.4.1.0<sup>1,14</sup>.0<sup>4,9</sup>]hexadecan-7-yl 3-phenylprop-2-enoate. Senyawa yang berhasil diisolasi ada 6 namun yang dielusidasi adalah dua senyawa yang merupakan golongan triterpenoid yaitu asam betulinat dan asam ursolat. Hasil *molecular docking* senyawa asam betulinat dan asam ursolat pada protein inhibitor Bcl-2 (2W3L) menunjukkan bahwa kedua senyawa ini dapat menghambat ekspresi protein Bcl-2. Kedua senyawa ini berpotensi sebagai sitotoksik pada sel kanker payudara MCF-7/HER2 dengan kategori aktivitas sedang, dimana nilai IC<sub>50</sub> < 20 µg/mL dan dapat menginduksi apoptosis pada sel kanker payudara MCF-7/HER2.

**Kata kunci:** Apoptosis, ekspresi protein Bcl-2, *molecular docking*, *recycling preparative HPLC*, sel T47D, sel MCF-7/HER2, *sirius platform*, *Uncaria nervosa* Elmer



## ABSTRACT

### **STUDY OF CYTOTOXIC ACTIVITY OF SEVERAL PLANTS *Uncaria* spp. FROM RIAU ON BREAST CANCER CELLS: ISOLATION, MOLECULAR DOCKING AND IN VITRO STUDY OF TERPENOIDS FROM *Uncaria nervosa* Elmer.**

Breast cancer is one of the most common diseases found in women today. Breast cancer occurs due to damage to growth and differentiation genes so that these cells can grow and develop uncontrollably. Cancer management such as giving anticancer drugs, chemotherapy, x-rays and surgery, requires expensive costs, and the patient's recovery rate after going through these stages is also relatively low. This treatment is still not specific because it can cause other normal cells to be killed, so it is necessary to develop new drugs that have selective therapeutic effects as anticancer drugs by exploring natural compounds derived from plants, including *Uncaria nervosa* Elmer. The *Uncaria nervosa* Elmer plant is a plant that is the local wisdom of Riau Province and traditionally, this plant is used to treat cancer.

This study was conducted with stages, namely screening of cytotoxic activity of 4 *Uncaria* spp species on T47D breast cancer cells, isolation using the bioassay guided isolation method using the metabolite profile approach, molecular docking studies of pure compounds, determination of cytotoxic activity, apoptosis and protein expression of pure compounds. Determination of cytotoxic activity was carried out using the MTT method, determination of metabolite profiles using LCMS/MS, purification of compounds was carried out using preparative recycling HPLC, induction of apoptosis was carried out using the double staining method and determination of Bcl-2 protein expression was carried out using the Western blot method.

In the research that has been conducted, the results obtained that the ethanol extract of *Uncaria nervosa* Elmer leaves has the most potent cytotoxic activity on T47D breast cancer cells. This extract is predicted to contain 9 compounds which are alkaloids, fatty acids, triterpenoids and diterpenoids. The ethanol extract was fractionated and the ethyl acetate fraction was selected to continue the isolation process. The isolation results obtained six isolates which are alkaloids, triterpenoids and steroids, and the isolates that were elucidated were isolates number three and four which are betulinic acid and ursolic acid compounds. These two compounds were determined for cytotoxic activity, apoptosis induction and Bcl-2 protein expression in MCF-7/HER2 breast cancer cells.

Based on the research that has been conducted, it can be concluded that the ethanol extract of *Uncaria nervosa* Elmer leaves has the most potent cytotoxic activity on T47D breast cancer cells. The predicted metabolite profile in the ethanol extract of *Uncaria nervosa* Elmer leaves is nicometh, 3-methoxy-2-methylpyridine, 1,1-dichloro-1-nitrosopropane, glucosol, betulonic acid, ursolic acid, 7-methyl-N-[6-[(7-methyl-6-oxooctanoyl) amino] hexyl]-6-oxononanamide, nervisterol and 3,5,10-tris(acetyloxy)-2-hydroxy-4,14,16,16-tetramethyl-8-methylidene-13-oxo-15oxatetracyclo[9.4.1.0<sup>1,14</sup>.0<sup>4,9</sup>]hexadecan-7-yl 3-phenylprop-2-enoate. There were



6 compounds that were successfully isolated but the ones that were elucidated were two compounds that were triterpenoids, namely betulinic acid and ursolic acid. The results of molecular docking of betulinic acid and ursolic acid compounds on the Bcl-2 protein inhibitor (2W3L) show that both compounds can inhibit Bcl-2 protein expression. These two compounds have the potential to be cytotoxic to MCF-7/HER2 breast cancer cells with a moderate activity category, where the  $IC_{50}$  value is  $< 20 \mu\text{g/mL}$  and can induce apoptosis in MCF-7/HER2 breast cancer cells.

Keywords: Apoptosis, Bcl-2 protein expression, molecular docking, recycling Preparative HPLC, T47D cells, MCF-7/HER2 cells, sirius platform, *Uncaria nervosa* Elmer

