

DISERTASI

**KAJIAN AKTIVITAS ANTIKANKER DAN MEKANISME
MULTITARGET EKSTRAK ETANOL *Taxus Sumatrana*
(Miq.) de Laub. MELALUI PENDEKATAN
FITOKIMIA, BIOLOGI MOLEKULER,
IN SILICO, DAN TOKSIKOLOGI**



**Oleh
DESI EKA PUTRI
NIM: 23 31012 001**

**PROGRAM STUDI FARMASI PROGRAM DOKTOR
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG
2026**

ABSTRAK

Kajian Aktivitas Antikanker dan Mekanisme Multitarget Ekstrak Etanol *Taxus sumatrana* (Miq.) de Laub. melalui Pendekatan Fitokimia, Biologi Molekuler, *in silico*, dan Toksikologi

Taxus sumatrana (Miq.) de Laub. merupakan spesies endemik Indonesia dari genus *Taxus* mengandung senyawa golongan taxane, termasuk paclitaxel yang telah digunakan secara empiris untuk mengobati kanker. Meskipun demikian, informasi mengenai aktivitas antikanker, mekanisme molekuler, profil metabolit, dan keamanan ekstrak *T. sumatrana* masih terbatas. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas antikanker ekstrak etanol *T. sumatrana*, mengkaji mekanisme molekuler yang terlibat, mengidentifikasi metabolit bioaktif dan target molekulernya, menetapkan paclitaxel sebagai senyawa penanda, serta mengevaluasi profil keamanan ekstrak melalui uji toksisitas praklinik.

Penelitian diawali dengan standardisasi simplisia dan ekstrak, identifikasi paclitaxel menggunakan HPLC, serta karakterisasi metabolit menggunakan LC-HRMS. Analisis kemometrik dilakukan menggunakan *Principal Component Analysis* (PCA) dan *K-means clustering*, kemudian dilanjutkan dengan *molecular docking* terhadap Human Kinesin Eg5. Aktivitas sitotoksik dievaluasi pada sel kanker payudara T47D, MCF-7/HER2, dan sel kanker serviks HeLa menggunakan metode MTT. Mekanisme antikanker dikaji melalui pengamatan apoptosis menggunakan pewarnaan Acridine Orange/Propidium Iodide (AO/PI), analisis siklus sel dan ekspresi protein p53 serta Cyclin D1 menggunakan *flow cytometry*, serta analisis ekspresi gen p53, Bax, dan Bcl-2 menggunakan RT-qPCR. Profil keamanan dievaluasi melalui uji toksisitas akut dan subkronik 28 hari serta 90 hari pada mencit.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol *T. sumatrana* memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker T47D, MCF-7/HER2, dan HeLa dengan tingkat selektivitas yang lebih tinggi dibandingkan terhadap sel normal Vero dan sel imun RAW 264.7. Ekstrak menginduksi apoptosis dan menyebabkan arrest siklus sel pada fase G₂/M. Pada tingkat molekuler, ekstrak meningkatkan ekspresi p53 dan Bax serta menurunkan ekspresi Bcl-2, yang menunjukkan aktivasi jalur apoptosis intrinsik. Karakterisasi menggunakan LC-HRMS mengidentifikasi berbagai metabolit bioaktif yang didominasi oleh golongan taxane, flavonoid, fenolik, dan terpenoid. Analisis kemometrik dan *molecular docking* mengidentifikasi beberapa senyawa dengan afinitas tinggi terhadap target Human Kinesin Eg5 yang berpotensi berkontribusi terhadap penghambatan mitosis. Paclitaxel berhasil dikonfirmasi dan ditetapkan sebagai senyawa penanda (*marker compound*) ekstrak aktif. Uji toksisitas menunjukkan tidak adanya mortalitas maupun perubahan toksik yang bermakna secara biologis pada parameter hematologi, biokimia darah, indeks organ, dan histopatologi hingga dosis 1000 mg/kgBB.

Disimpulkan bahwa *T. sumatrana* berpotensi dikembangkan sebagai kandidat fitofarmaka antikanker dengan mekanisme kerja multitarget yang melibatkan gangguan mitosis, *arrest* siklus sel fase G₂/M, aktivasi apoptosis yang berkaitan dengan p53, serta modulasi regulator proliferasi dan kelangsungan hidup sel. Aktivitas tersebut didukung oleh profil metabolit yang kompleks, paclitaxel sebagai senyawa penanda, dan profil keamanan praklinik yang baik.

ABSTRACT

Anticancer Activity and Multitarget Mechanisms of Ethanolic Extract of *Taxus sumatrana* (Miq.) de Laub.: An Integrated Phytochemical, Molecular Biology, *in silico*, and Toxicological Study

Taxus sumatrana (Miq.) de Laub. is an endemic Indonesian species belonging to the genus *Taxus* and is known to contain taxane compounds, including paclitaxel, which has been traditionally used for cancer treatment. However, information regarding the anticancer activity, molecular mechanisms, metabolite profile, and safety of *T. sumatrana* extracts remains limited. This study aimed to evaluate the anticancer activity of the ethanol extract of *T. sumatrana*, investigate its underlying molecular mechanisms, identify bioactive metabolites and their molecular targets, establish paclitaxel as a marker compound, and assess the safety profile of the extract through preclinical toxicity studies.

The study was initiated by the standardization of plant materials and extracts, followed by paclitaxel identification using High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) and metabolite characterization using Liquid Chromatography-High Resolution Mass Spectrometry (LC-HRMS). Chemometric analyses were performed using Principal Component Analysis (PCA) and K-means clustering, followed by molecular docking against Human Kinesin Eg5. Cytotoxic activity was evaluated against T47D and MCF-7/HER2 breast cancer cells as well as HeLa cervical cancer cells using the MTT assay. Anticancer mechanisms were investigated through apoptosis assessment using Acridine Orange/Propidium Iodide (AO/PI) staining, cell cycle and protein expression analyses of p53 and Cyclin D1 by flow cytometry, and gene expression analyses of p53, Bax, and Bcl-2 using reverse transcription quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR). The safety profile was evaluated through acute toxicity and 28-day and 90-day subchronic toxicity studies in mice.

The results demonstrated that the ethanol extract of *T. sumatrana* exhibited cytotoxic activity against T47D, MCF-7/HER2, and HeLa cancer cells, with greater selectivity toward cancer cells than toward normal Vero cells and RAW 264.7 macrophages. The extract induced apoptosis and caused cell cycle arrest at the G₂/M phase. At the molecular level, treatment increased the expression of p53 and Bax while decreasing Bcl-2 expression, indicating activation of the intrinsic apoptotic pathway. LC-HRMS analysis revealed a diverse range of bioactive metabolites predominantly belonging to the taxane, flavonoid, phenolic, and terpenoid classes. Chemometric analysis and molecular docking identified several compounds with high binding affinities toward Human Kinesin Eg5, suggesting their potential contribution to mitotic inhibition. Paclitaxel was successfully confirmed and established as a marker compound of the active extract. Toxicity studies revealed no mortality or biologically significant adverse effects on hematological, blood biochemical, organ index, or histopathological parameters at doses up to 1000 mg/kg body weight.

In conclusion, *T. sumatrana* possesses considerable potential as a phytopharmaceutical anticancer candidate with a multitarget mechanism of action involving mitotic disruption, G₂/M cell cycle arrest, p53-associated apoptosis activation, and modulation of key regulators of cell proliferation and survival. These activities are supported by its complex metabolite profile, the presence of paclitaxel as a marker compound, and a favorable preclinical safety profile.