

# Isolasi, karakterisasi, dan Uji Sitotoksik dari Kaskara Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Terhadap Sel Kanker Hela dan MCF-7 Secara In Vitro dan In Silico = Isolation, characterization, and Cytotoxicity Test of Kaskara Robusta Coffee (*Coffea canephora*) Against Hela and MCF-7 Cancer Cells In Vitro and In Silico

Novi Fajar Utami, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=9999920552119&lokasi=lokal>

---

## Abstrak

Salah satu pendekatan pengobatan terapi kanker yaitu dengan mengeksplorasi tanaman obat yang mengandung satu atau lebih senyawa yang secara khusus menargetkan sel kanker dengan efek samping yang lebih sedikit. Kopi (*Coffea* sp.) dilaporkan memiliki sifat antikanker. Dalam budidaya kopi, dihasilkan sekitar 50-60% limbah kulit buah (kaskara). Saat ini olahan kaskara banyak diproduksi sebagai produk makanan dan suplemen karena mengandung protein, polisakarida, dan senyawa aktif, hal ini akan menjadi pendekatan yang menjanjikan untuk mengembangkan terapi kanker yang dapat ditargetkan secara khusus pada sel kanker. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh senyawa metabolit sekunder dari kaskara kopi robusta yang beraktivitas sitotoksik dan mengevaluasi mekanisme kematiannya terhadap sel Hela dan sel MCF-7 secara in vitro dan in silico serta menentukan kadar senyawa aktifnya. Kaskara kopi robusta diekstraksi menggunakan pelarut etanol 70%, dan dievaluasi mutu ekstrak berdasarkan parameter spesifik dan non spesifik. Selanjutnya dilakukan fraksinasi bertingkat menggunakan pelarut n-heksana, etil asetat, dan metanol-air. Fraksi dilanjutkan isolasi secara kolom kromatografi dan dilakukan pemurnian hingga diperoleh isolat dan dikarakterisasi dengan <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, 2D-NMR, LC-MS, UV-Vis dan FT-IR serta diuji aktivitas sitotoksik terhadap sel Hela dan sel MCF-7 secara in vitro dan in silico terhadap protein target Caspase 3 dan Caspase 9. Penetapan kadar senyawa aktif dilakukan dengan KCKT-PDA. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kaskara kopi robusta memenuhi syarat mutu Farmakope Herbal Indonesia. Hasil pemurnian dan elusidasi kaskara kopi robusta diperoleh sepuluh senyawa: Cas 01: friedelin, Cas 04: asam ursolat, Cas 06: lufeol merupakan golongan triterpenoid; Cas 02: stigmasterol, Cas 03: beta sitosterol merupakan golongan steroid; Cas 05: tricalysiolide B merupakan golongan diterpenoid; Cas 07: kafein merupakan turunan alkaloid; Cas 08: asam klorogenat, Cas 09: asam kafeat merupakan golongan fenolik, dan Cas 10: katekin yang merupakan golongan flavonoid. Hasil uji aktivitas sitotoksik secara in vitro terhadap kanker serviks (Sel Hela) dan kanker payudara (sel MCF-7) menunjukkan bahwa senyawa kontrol positif (cisplatin) memberikan hasil IC<sub>50</sub> 19,85 ± 0,14 µg/mL terhadap sel Hela dan IC<sub>50</sub> 25,87 ± 0,17 µg/mL terhadap sel MCF-7. Senyawa Cas 04 memberikan potensi paling aktif sebagai antikanker yang ditunjukkan dengan data terhadap kanker serviks (Sel Hela) dengan kategori toksik (IC<sub>50</sub> 25,85 ± 0,17 µg/mL) dan kanker payudara (sel MCF-7) dengan kategori sangat toksik (IC<sub>50</sub> 12,83 ± 0,15 µg/mL); delapan senyawa (Cas 01, Cas 02, Cas 03, Cas 06, Cas 07, Cas 08, Cas 09, dan Cas 10) masuk dalam kategori toksik dan satu senyawa (Cas 05) dalam kategori kurang toksik. Senyawa teraktif (asam ursolat) menginduksi persinyalan apoptosis melalui jalur intrinsik dengan peningkatan ekspresi gen pada caspase 3 dan caspase 9 yang diukur dengan metode RT-qPCR. Kadar senyawa aktif dalam ekstrak kaskara kopi robusta diperoleh hasil kadar senyawa lufeol sebesar 0,087 ± 0,015%; stigmasterol sebesar 0,126 ± 0,046%; asam ursolat 0,627 ± 0,002%; friedelin 0,539 ± 0,137%; kafein sebesar 3,203 ± 0,069%; asam klorogenat sebesar 0,679 ±

0,003%; asam kafeat sebesar  $0,153 \pm 0,003\%$  dan senyawa katekin sebesar  $0,359 \pm 0,012\%$ . Aktivitas in silico dari senyawa hasil isolasi terhadap protein target caspase 3 dan caspase 9 memperlihatkan bahwa sembilan senyawa (friedelin, beta-sitosterol, stigmasterol, asam ursolat, lufeol, kafein, asam klorogenat, asam kafeat, katekin) menghasilkan skor penambatan lebih negatif dari kontrol positif serta melibatkan pembentukan ikatan hidrogen, ikatan hidrofobik dan ikatan alkil dalam interaksi pengikatan antara senyawa dengan caspase 3 dan caspase 9. Kesepuluh senyawa hasil isolasi telah dilaporkan terkandung dalam genus *Coffea* dan keluarga Rubiaceae, tetapi beberapa senyawa (friedelin, asam ursolat, lufeol, tricalysiolide B) baru dilaporkan pertama kali dari bagian kaskara kopi robusta.

.....One approach to cancer therapy treatment is to explore medicinal plants that contain one or more compounds that specifically target cancer cells with fewer side effects. Coffee (*Coffea* sp.) is reported to have anticancer properties. In coffee cultivation, around 50-60% of fruit skin waste (kaskara) is produced. Currently, processed cascara is widely produced as food products and supplements because it contains protein, polysaccharides, and active compounds. This will be a promising approach for developing cancer therapy that can be targeted specifically at cancer cells. This research aims to obtain secondary metabolite compounds from Robusta coffee beans that have cytotoxic activity and evaluate the mechanism of their death on Hela cells and MCF-7 cells in vitro and in silico and determine the levels of active compounds. Robusta coffee beans were extracted using 70% ethanol solvent, and the quality of the extract was evaluated based on specific and non-specific parameters. Next, multilevel fractionation was carried out using the solvents n-hexane, ethyl acetate, and methanol-water. The fraction was then isolated using column chromatography and purified until an isolate was obtained and characterized by <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, 2D-NMR, LC-MS, UV-Vis and FT-IR and tested for cytotoxic activity against Hela cells and MCF-7 cells. In vitro and in silico against the target proteins caspase 3 and caspase 9. Determination of active compound levels was carried out using HPLC-PDA. The research results show that robusta coffee cascara extract meets the quality requirements of the Indonesian Herbal Pharmacopoeia. The results of the purification and elucidation of robusta coffee cascara obtained ten compounds: Cas 01: friedelin, Cas 04: ursolic acid, Cas 06: lupeol is a triterpenoid group; Cas 02: stigmasterol, Cas 03: beta-sitosterol is a class of steroids; Cas 05: tricalysiolide B is a diterpenoid group; Cas 07: caffeine is an alkaloid derivative; Cas 08: chlorogenic acid, Cas 09: caffeic acid which is a phenolic group, and Cas 10: catechin which is a flavonoid group. The results of the in vitro cytotoxic activity test against cervical cancer (Hela cells) and breast cancer (MCF-7 cells) showed that the positive control compound (cisplatin) gave an IC<sub>50</sub> of  $19.85 \pm 0.14 \mu\text{g/mL}$  against Hela cells and an IC<sub>50</sub> of  $25.87 \pm 0.17 \mu\text{g/mL}$  against MCF-7 cells. The Cas 04 compound provides the most active potential as an anticancer as shown by data against cervical cancer (Hela cells) in the toxic category (IC<sub>50</sub>  $25.85 \pm 0.17 \mu\text{g/mL}$ ) and breast cancer (MCF-7 cells) in the very toxic category (IC<sub>50</sub>  $12.83 \pm 0.15 \mu\text{g/mL}$ ); eight compounds (Cas 01, Cas 02, Cas 03, Cas 06, Cas 07, Cas 08, Cas 09, and Cas 10) are in the toxic category and one compounds (Cas 06) are in the less toxic category. The active compound (ursolic acid) induces apoptotic signaling through the intrinsic pathway with increased gene expression for caspase 3 and caspase 9 as measured by the RT-qPCR method. The levels of active compounds in robusta coffee cascara extract resulted in lufeol compound levels of  $0.087 \pm 0.015\%$ ; stigmasterol was  $0.126 \pm 0.046\%$ ; ursolic acid  $0.627 \pm 0.002\%$ ; friedelin  $0.539 \pm 0.137\%$ ; caffeine of  $3.203 \pm 0.069\%$ ; chlorogenic acid of  $0.679 \pm 0.003\%$ ; caffeic acid was  $0.153 \pm 0.003\%$  and catechin compounds were  $0.359 \pm 0.012\%$ . The in silico activity of the isolated compounds against the target proteins caspase 3 and caspase 9 showed that nine compounds (friedelin, beta-sitosterol, stigmasterol, ursolic acid, lupeol, caffeine, chlorogenic acid, caffeic

acid, catechin) produced docking scores that were more negative than the control positive and involves the formation of hydrogen bonds, hydrophobic bonds and alkyl bonds in the binding interaction between the compound and caspase 3 and caspase 9. The ten isolated compounds have been reported to be contained in the genus *Coffea* and the Rubiaceae family, but several compounds (friedelin, ursolic acid, lupeol, tricalysiolide B) have only been reported for the first time from the cascara part of robusta coffee.