

Antigenotoxic Activity of *Hedyotis corymbosa* L. Ethanolic Extract on Cyclophosphamide-Induced Mice

Abstract

Exposure of chemical compounds has been shown to induce genotoxic effects that manifest as peripheral blood micronucleus. *Hedyotis corymbosa* L. ethanolic extract (HcEE) is known to have major compound ursolic acid, a pentacyclic triterpenoid. Ursolic acid possesses antigenotoxic activity on HepG2 cell line. The aim of this study is to evaluate the antigenotoxic effects of HcEE on cyclophosphamide (CP)-induced male Swiss mice.

The ursolic acid on HcEE was analyzed by using thin layer chromatography. Silica gel was used as stationary phase and chloroform-aceton (9:1) were used as mobile phase. The antigenotoxic activity was carried out by micronucleus test. Twenty four adult mice were equally divided into seven groups. Group I: control (untreated); group II: sodium CMC 0.5%; group III: CP 50 mg/kg b.w; group IV: CP+HcEE 250 mg/kg b.w; group V: CP+HcEE 500 mg/kg b.w; group VI: CP+HcEE 1000 mg/kg b.w; group VII: HcEE 1000 mg/kg b.w. HcEE were given for seven days, while CP was administered on the last two days. On the seventh day, the peripheral blood was taken, smeared, and then stained with Giemsa. The frequencies of MNPCEs and %PCEs were evaluated. Molecular docking was performed to know the interaction of ursolic acid and CYP3A4 by using PLANTS.

Thin layer chromatography of HcEE had similar R_f with ursolic acid standard: 60. HcEE reduced MNPCEs significantly as compared to CP control group and combination of CP with HcEE showed restoration of %PCEs. Based on molecular docking analysis, ursolic acid gave lower docking score than CP against CYP3A4 (PDB ID: 2V0M) and similar binding site on amino acid residues Ala 448, Ile 369, Thr 309, and Val 313. This research suggested that HcEE has protective effect against CP-induced genotoxicity.

Keywords: antigenotoxic, *Hedyotis corymbosa* L., cyclophosphamide, micronucleus, molecular docking

Aktivitas Antigenotoksik Ekstrak Etanolik Rumput Mutiara (*Hedyotis corymbosa* L.) Pada Mencit Terinduksi Siklofosfamid

Intisari

Paparan senyawa kimiawi terbukti memicu timbulnya efek genotoksik yang dapat diamati sebagai *miconucleus* pada eritrosit. Ekstrak etanolik rumput mutiara *Hedyotis corymbosa* L. (ERM) mengandung beberapa senyawa, diantaranya asam ursolat yang dilaporkan memiliki aktivitas antigenotoksik terhadap sel kanker HepG2 secara *in vitro*. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efek antigenotoksik ERM pada mencit jantan galur *Swiss* terinduksi siklofosfamid (SIF).

Kandungan asam ursolat dalam ERM dapat dideteksi melalui kromatografi lapis tipis (KLT) pada lempeng silika gel menggunakan fase gerak kloroform:aseton (9:1). Uji aktivitas antigenotoksik dilakukan dengan *miconucleus test*. Sebanyak 42 ekor mencit dibagi menjadi tujuh kelompok yang terdiri dari: kelompok tanpa perlakuan; kontrol Na-CMC 0,5%; kontrol SIF 50 mg/kg BB; kontrol ERM 1000 mg/kg BB; dan ERM 250, 500, dan 1000 mg/kg BB yang dipejani SIF 50 mg/kg BB. Perlakuan ERM diberikan secara *p.o* selama 7 hari, sedangkan SIF diberikan secara *i.p* pada 2 hari terakhir. Pada akhir perlakuan, mencit dikorbankan kemudian diambil darah perifer dari vena ekor untuk dihitung jumlah MNPCE dan %PCE. Uji *molecular docking* dilakukan untuk mengamati interaksi antara asam ursolat dan CYP3A4.

Dari hasil KLT didapat bercak dengan warna dan harga R_f yang sama dengan standar asam ursolat (merah muda, $R_f = 60$). Perlakuan ERM 250, 500, dan 1000 mg/kg BB menunjukkan penurunan MNPCE secara bermakna, namun meningkatkan %PCE secara tidak bermakna terhadap SIF ($P < 0,05$). Pada uji *molecular docking* asam ursolat memberikan skor docking yang lebih rendah (-88) dibandingkan SIF (-74) terhadap protein CYP3A4 (PDB ID: 2V0M) dan kesamaan situs ikat dengan *native ligand* pada residu asam amino Ala 448, Ile 369, Thr 309, dan Val 313. Secara keseluruhan hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ERM berpotensi sebagai agen antigenotoksik.

Kata kunci: antigenotoksik, *Hedyotis corymbosa* L., siklofosfamid, *miconucleus*, *molecular docking*