

6699-18504-1-PB

By Rocky Alfanaar

Cytotoxic effect of 2,3-dihydro-6-hydroxy-2-methylenenaphtho[1,2-b]furan-4,5-dione compound from the bark of faloak (*Sterculia quadrifida* R.Br) in breast cancer cells T47D

Efek sitotoksik senyawa 2,3-dihydro-6-hydroxy-2-methylenenaphtho [1,2-b]furan-4,5-dione dari kulit batang faloak (*Sterculia quadrifida* R.Br) pada sel kanker payudara T47D

Rollando Rollando¹, Rokiy A²anaar

Program Studi Farmasi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Ma Chung, Malang
Villa Puncak Tidar N-01, Malang 65151

Submitted: 27-06-2017

Reviewed: 15-07-2017

Accepted: 22-08-2017

ABSTRAK

Faloak (*Sterculia quadrifida* R.Br) digunakan secara empiris oleh penduduk Nusa Tenggara Timur sebagai tanaman obat. Informasi senyawa aktif yang terkandung didalam kulit faloak secara spesifik belum dipublikasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui senyawa aktif yang terdapat didalam kulit faloak yang mempunyai efek sitotoksik pada sel kanker payudara jenis T47D. Ekstraksi menggunakan metode maserasi, isolasi menggunakan metode isolasi bertingkat, elusidasi menggunakan penggabungan informasi dari spektra IR, 1D-NMR, 2D-NMR dan LC-MS, dan uji aktivitas sitotoksik pada sel kanker payudara T47D menggunakan metode MTT. Hasil isolasi diperoleh isolat turunan senyawa naptokuinon yaitu 2,3-dihydro-6-hydroxy-2-methylenenaphtho[1,2-b]furan-4,5-dione dengan nilai IC₅₀ pada sel kanker payudara T47D sebesar 9,88 µg/mL dan dengan nilai selektivitas indeks sebesar 30,23.

Kata kunci: faloak, sitotoksik, 2,3-dihydro-6-hydroxy-2-methylenenaphtho [1,2-b]furan-4,5-dione, T47D

ABSTRACT

Faloak (*Sterculia quadrifida* R.Br) is used empirically by residents of East Nusa Tenggara for drug plant. The information of the active compound contained in the faloak bark yet specifically published. This study aims to determine the active compound contained in the faloak bark that have cytotoxic activity to T47D breast cancer cells. Extraction process using maceration method, isolation process using gradien isolation method, elusidation using combination of information of IR spectra, 1D-NMR, 2D-NMR and LC-MS, and cytotoxic activity test on T47D breast cancer cells using MTT method. The isolation result obtained that isolate of naphthoquinone derivative compound is 2,3-dihydro-6-hydroxy-2-methylenenaphtho [1,2-b]furan-4,5-dione with IC₅₀ value on T47D breast cancer cell was 9,88 µg/mL and with an index selectivity value was 30,23.

Keywords: faloak, cytotoxic, 2,3-dihydro-6-hydroxy-2-methylenenaphtho [1,2-b]furan-4,5-dione, T47D

Penulis Korespondensi:

Rollando

Program Studi Farmasi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Ma Chung, Malang

Villa Puncak Tidar N-01, Malang 65151

Email: ro.llando@machung.ac.id

PENDAHULUAN

Faloak (*Sterculia quadrifida* R.Br) adalah tumbuhan dari famili *Sterculiaceae* yang secara empiris dimanfaatkan oleh masyarakat di daerah Nusa Tenggara Timur (NTT) sebagai tanaman obat tradisional. Masyarakat NTT mengonsumsi air rebusan bagian kulit dari batang tumbuhan faloak untuk menyembuhkan penyakit hepatitis, gastroenteritis, diabetes dan rheumatoid arthritis (Rollando dan Prilianti, 2017). Uji golongan senyawa kimia diperoleh informasi bahwa ekstrak aseton, etil asetat, metanol, dan n-heksana dari kulit batang tumbuhan faloak memiliki senyawa flavonoid, fenolik, tanin dan terpenoid (Rollando dan Siswadi, 2016).

Naftokuinon merupakan golongan senyawa metabolit sekunder yang banyak ditemukan pada fungi, bakteri, dan tumbuhan. Naftokuinon terbagi atas beberapa golongan dan masing-masing memiliki aktivitas biologi seperti aktivitas sitotoksik, antibakteri, fungisidal, antiparasit, insektisidal, dan antiinflamasi (Lopez *et al.*, 2015). Rollando dan Prilianti melaporkan bahwa fraksi etil asetat dari kulit batang faloak mampu menginduksi apoptosis dan siklus sel pada sel kanker payudara jenis T47D (Rollando dan Prilianti, 2017). Hasil penelitian tersebut menjadi dasar untuk dilakukan proses isolasi senyawa kimia dari kulit batang faloak yang dapat menjadi informasi penting untuk mengetahui kandidat senyawa kimia yang mempunyai aktivitas sitotoksik.

Kanker merupakan penyebab kematian utama di dunia, yaitu 7,6 juta kematian (sekitar 13% seluruh kematian) pada tahun 2008, dan diperkirakan semakin meningkat hingga mencapai 13,1 juta kematian pada tahun 2030 (Bray *et al.*, 2012). Kanker payudara menduduki peringkat pertama kasus kanker pada wanita di seluruh dunia, dengan angka kejadian sebesar 1.676.633. Kanker ini merupakan penyebab kematian akibat kanker yang paling banyak pada wanita. Salah satu permasalahan yang sering timbul dalam pengobatan kanker adalah resistensi obat kemoterapi (*drug resistance*) (Ferlay *et al.*, 2012). Oleh sebab itu diperlukan jalan keluar untuk mengatasi resistensi, diantaranya eksplorasi senyawa kimia dari bahan alam sebagai antikanker. Informasi mengenai senyawa kimia dalam kulit batang faloak yang mempunyai aktivitas antikanker masih belum banyak di eksplorasi sehingga tujuan dalam penelitian ini adalah untuk mengetahui isolat aktif pada kulit batang faloak yang mempunyai aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Kolom kromatografi, chamber (Sigma), *vacuum rotary evaporator* (Junke & Kunkel), *inverted microscope*, *elisa reader*, vortex (Junke & Kunkel), *waterbath* (labo-tech, Heraeus), hemositometer, *cell counter*, filter polietilensulfon, *tissue culture flask*, tabung ependorf, autoklaf (AC-300AE, Tiyoda Manufacturing Co. Ltd), kotak aseptis, cawan petri (Pyrex), ose, plug, *paper disc*, *microtiter plate 96-well* (Bio-Rad), inkubator (Sakura), oven, Erlenmeyer (Pyrex), plat KLT (Merck), chamber KLT (Camag), *Laminar Air Flow cabinet* (FARRco), FTIR (FTIR-100 Perkin Elmer)MS (Mariner Biospectrometry Sistem HRESIMS) dan spektrometer NMR (Delta 2 400 MHz untuk $^1\text{H-NMR}$ dan 100 MHz untuk $^{13}\text{C-NMR}$).

Kulit batang faloak yang diperoleh dari Balitbang Kehutanan Kupang Nusa Tenggara Timur, aquadest, etanol (teknis), metanol (Merck), n-heksana (Merck), n-butanol (Merck), etil asetat (Merck), buffer fosfat (Merck), potasium ferrisianida (Merck), FeCl_3 (Merck), Kultur sel T47D (diperoleh dari laboratorium parasitologi fakultas kedokteran UGM), kultur sel Vero (diperoleh dari laboratorium parasitologi fakultas kedokteran UGM), media kultur RPMI (Sigma), FBS 10% (Gibco), penisilin-streptomisin 1% (Gibco), fungizon 0,5% (Gibco), natrium bikarbonat (Sigma), hepes (Sigma), tripsin-EDTA 0,25% (Gibco), media M119, reagen MTT [3-(4,5-dimetil thiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromide], *phosphate buffer saline* (PBS), reagen stopper (10% (w/v) sodium dodesil sulfat (SDS) dalam 0,1 N HCL, *Phosphate Buffer Saline* (PBS) PH 7,4.

Jalannya Penelitian

Ekstraksi

Kulit batang faloak sebanyak 2 kg yang telah kering kemudian diserbuk menggunakan grinder dan diayak menggunakan ayakan 40 mesh dan diperoleh serbuk kulit batang faloak sebanyak 1,50 kg.

Langkah kedua adalah melakukan maserasi selama 48 jam dengan menggunakan pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1:6. Dilakukan pergantian pelarut etanol 96% sebanyak 3 kali. Filtrat diperoleh dengan cara disaring dengan corong Buchner. Seluruh filtrat yang diperoleh diuapkan penyaringnya hingga kental dengan evaporator. Bobot ekstrak yang diperoleh adalah 60,76 g atau rendemen yang diperoleh sebesar 4,05 % (Rollando dan Prilianti, 2017).

Fraksinasi dan isolasi

Larutan ekstrak difraksinasi menggunakan n-heksana (3x100 mL), etil asetat (3x100 mL), dan n-butanol (3x100 mL) secara berurutan. Masing-masing fraksi dikeringkan pada suhu 40 °C hingga diperoleh bobot fraksi yang tetap. Fraksi etil asetat (25,3g) digunakan untuk dilakukan pemisahan menggunakan metode kromatografi kolom (3,0x50 cm) dengan fase diam silika gel. Pemisahan menggunakan fase gerak n-butanol:etil asetat dengan konsep gradien dari perbandingan 100:0 hingga 0:100 dan setiap fraksi ditampung menggunakan vial. Dari jumlah 10 fraksi, fraksi 6 yang diperoleh dari perbandingan fase gerak 50% etil asetat:n-butanol, difraksinasi menggunakan dengan metode kromatografi kolom menggunakan sistem solven yang sama (Rollando, 2017). Hasil pemisahan akhir, diperoleh isolat 1 (28 mg) dari penguapan solven 30% etil asetat:n-butanol. Elusidasi struktur menggunakan metode infra merah, 1D-NMR, 2D-NMR, dan MS.

Uji sitotoksik

Uji sitotoksitas menggunakan metode MTT. Sel kanker payudara T47D ditumbuhkan dengan media kultur RPMI, sel normal Vero dalam media kultur M199, masing-masing berisi FBS 10%, penisilin-streptomisin 1%, dan fungison 0,5%. Konsentrasi larutan uji yang digunakan adalah 7,81 ; 15,62 ; 31,25 ; 62,5 ; 125 ; 250 ; 500 µg/mL. Viabilitas sel ditentukan dengan absorbansi pada λ 595 nm menggunakan *plate reader*. Data absorbansi perlakuan dikonversi ke dalam persen viabilitas dan digunakan untuk menghitung IC_{50} . *Selectivity Index* (SI) merupakan hasil bagi antara IC_{50} sel Vero dan IC_{50} sel T47D (Tirtanirmala, 2014).

HASIL DAN PEMBAHASAN

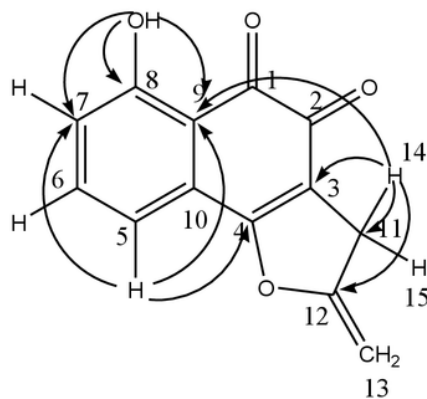
Hasil ekstraksi terhadap 1,5 kg serbuk kering kulit batang falok diperoleh 60,76 g ekstrak etanol dan hasil pemisahan dengan kromatografi kolom gravitasi diperoleh fraksi 1-10 dengan eluen campuran n-butanol dan etil asetat yang berubah secara gradien. Hasil pemisahan menggunakan kromatografi kolom gravitasi ditampung dalam botol 20 mL dan dilakukan pemisahan sistem KK yang sama. Masing-masing fraksi diuapkan, kemudian dilakukan uji noda dengan KLT agar diketahui fraksi yang mempunyai R_f yang sama untuk kemudian digabungkan. Dari proses ini diperoleh 4 fraksi, fraksi berbentuk kristal warna kuning. Setelah di rekristalisasi dan dianalisis sifat fisika dan spektroskopinya, diperoleh informasinya bahwa senyawa tersebut (kemudian disebut senyawa 1) mempunyai bentuk kristal berwarna kuning; titik leleh 423-425 °C. Rotasi spesifik $[\alpha]_D^{25} = -287$ (kloroform), larut dalam aseton, diklorometana, dan n-butanol.

Hasil pengukuran senyawa 1 menggunakan spektroskopi UV pada panjang gelombang antara 200-500 nm, menunjukkan bahwa senyawa tersebut memberikan serapan maksimum dalam diklorometana pada panjang gelombang (λ) (log ϵ) 213 (4.51); 257 (4.19); 416 (3.64) nm. Berdasarkan literatur, senyawa naptokuinon memiliki karakteristik berupa serapan maksimum pada λ 213 & 257 nm (Inoue *et al.*, 1983). Hasil pengukuran menggunakan IR (KBr) diperoleh ν -maksimum 3426 (gugus -OH), 3074 (senyawa aromatik), 2925 (gugus -C-H), 1734 (gugus -C=O), 1617 (gugus -C=C-), 1122 (gugus -C-O-C-) cm^{-1} (Pavia *et al.*, 2014). Hasil pengukuran spektroskopi massa menunjukkan data HRESIMS mempunyai m/z 257.08077 $[M + H]^+$ (terkalkulasi $C_{15}H_{12}O_4$ 257.08139).

Tabel I. Data NMR (400 MHz, CDCl₃) senyawa 1

Posisi	δ_C , tipe	δ_H , (J;Hz)	HMBC
1	184.1, C		
2	174.1, C		
3	122.7, C		
4	165.1, C		
5	117.9, CH	7.32 dd (7.5, 0.8)	4, 7, 9
6	138.1, CH	7.57 dd (8.5, 7.5)	8, 10
7	123.4, CH	7.14 dd (8.5, 0.8)	5, 8, 9
8	164.4, C		
9	112.9, C		
10	126.9, C		
11	44.2, C		
12	170.7, C		
13	87.8, C	4.50 d (3.5) 4.91 d (3.5)	11, 12 14, 15
14	28.2, CH ₃	1.56 s	3, 11, 12, 15
15	28.1, CH ₃	1.56 s	3, 11, 12, 14
OH		11.98 s	7, 8, 9

Data ¹H dan ¹³C NMR disajikan pada Tabel I. Data H-NMR pada Tabel I menunjukkan signal dari tiga proton dari gugus benzena trisubstitusi (δ_H 7.14 - 7.50). Dua pasang proton metilen olefinik (δ_H 4.50 - 4.91), dua gugus metil yang ekuivalen (δ_H 1.56), dan satu gugus hidroksi dengan ikatan proton intramolekular (δ_H 11.98). Data C-NMR pada Tabel I menunjukkan senyawa 1 mempunyai 15 atom karbon, termasuk dua gugus karbonil (δ_C 174.1 dan δ_C 184.1) yang mengindikasikan struktur 1,2 naptokuinon (Arnason *et al.*, 2013). Struktur senyawa 1 juga di dukung dengan data dari HMBC, pada spektrum HMBC adanya korelasi antara proton dengan C yang berdekatan yang berjarak maksimal 3 ikatan dimana data korelasi dapat dilihat pada H-5 (δ_H 7.32) dengan C-9 (δ_C 112.9), C-7 (δ_C 123.4), dan C-4 (δ_C 165.1); H-14 (δ_H 1.56) dengan C-9 (δ_C 112.9), C-12 (δ_C 170.7), C-11 (δ_C 44.2), dan C-3 (δ_C 122.7); dan gugus OH (δ_H 11.98) dengan C-9 (δ_C 112.9), C-8 (δ_C 164.4), dan C-7 (δ_C 123.4). Dari data-data tersebut disimpulkan bahwa senyawa 1 adalah turunan dehidrodunion, yaitu 2,3-dihydro-6-hydroxy-2-methylenenaphtho [1,2-b] furan-4,5-dione.

Gambar 1. Struktur senyawa 1, (HMBC \Rightarrow)

Data pada Tabel II menunjukkan parameter nilai IC₅₀, diperoleh dari hasil pengujian bahwa isolat 1 mempunyai nilai IC₅₀ pada sel kanker T47D sebesar 9,88 μ g/mL dengan kategori aktif. Semakin

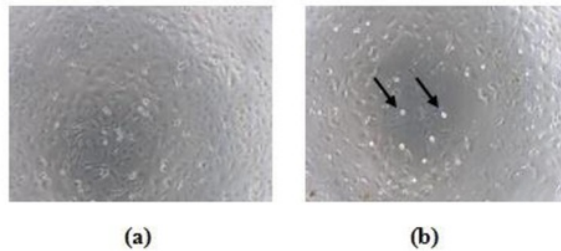
kecil nilai IC_{50} suatu senyawa maka semakin besar efek sitotoksiknya. Nilai IC_{50} yang didapatkan pada perlakuan isolat 1 menunjukkan bahwa dapat dikembangkan sebagai sebagai agen kemopreventif karena didapatkan nilai IC_{50} yang lebih kecil dari 100 $\mu\text{g/mL}$ (Dey, 2012). Kriteria dalam memilih senyawa antikanker terhadap sel kanker payudara didasarkan pada potensi, selektivitas, kemudahan dalam isolasi serta ketercukupan senyawa untuk diuji dan dikembangkan lebih lanjut.

Nilai selektivitas suatu senyawa bertujuan untuk mengetahui tingkat keamanan suatu senyawa antikanker terhadap sel normal. Nilai *selectivity index* yang disyaratkan adalah > 3 , yang menandakan bahwa ekstrak, fraksi, atau isolat mempunyai aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker tapi dengan pengaruh minimal pada sel normal, dan dapat dikembangkan lebih lanjut sebagai agen kemopreventif (Prayong *et al.*, 2008). Isolat 1 selektif membunuh sel kanker payudara T47D. Hal tersebut terlihat dari nilai *Selectivity index* isolat 1 dengan nilai > 3 . Kuatnya aktivitas antikanker dikategorikan sebagai berikut: $IC_{50} = 5 \mu\text{g/mL}$ (sangat aktif); $IC_{50} = 5-10 \mu\text{g/mL}$ (aktif); $IC_{50} = 11-30$ (sedang); $IC_{50} = 30 \mu\text{g/mL}$ (tidak aktif) (Choi *et al.*, 2007).

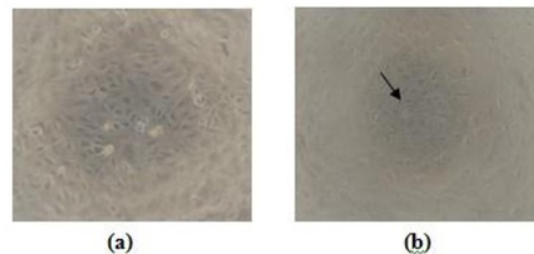
Tabel II. Hasil uji sitotoksik isolat

Isolat	IC_{50} T47D ($\mu\text{g/ml}$)	IC_{50} Vero ($\mu\text{g/ml}$)	<i>Selectivity index</i> (SI)
1	9,88	298,65	30,23

Selain dari hasil MTT *assay*, sitotoksitas yang disebabkan oleh perlakuan isolat 1 dapat diamati melalui perubahan morfologi sel. Perlakuan isolat 1 menyebabkan sel T47D mengalami perubahan morfologi yaitu inti sel tampak mengerut, terlihat sel yang mengalami kematian, dan jumlah sel berkurang, sedangkan sel tanpa perlakuan menunjukkan morfologi yang normal (Gambar 2b).



Gambar 2. Efek perlakuan isolat 1 terhadap sel Vero. Pengamatan dilakukan di bawah mikroskop *inverted* dengan pembesaran 100x. (a) sel tanpa pelakuan; (b) Isolat 1 dengan konsentrasi 10 $\mu\text{g/mL}$. Perubahan morfologi sel Vero ditunjukkan dengan gambar panah (\rightarrow)



Gambar 3. Efek perlakuan isolat 1 terhadap sel Vero. Pengamatan dilakukan di bawah mikroskop *inverted* dengan pembesaran 100x. (a) sel tanpa pelakuan; (b) Fraksi 4 dengan konsentrasi 300 $\mu\text{g/mL}$. Perubahan morfologi sel Vero ditunjukkan dengan gambar panah (\rightarrow)

Efek sitotoksis isolat 1 terhadap sel Vero berdasarkan nilai IC_{50} dan profil morfologi sel menunjukkan efek yang lebih rendah jika dibandingkan dengan efeknya terhadap sel T47D. Perlakuan isolat 1 juga menyebabkan sel Vero mengalami perubahan morfologi, yaitu sel mengecil dan

Efek sitotoksik senyawa... (Rollando and Alfanaar)

membulat namun diperlukan konsentrasi yang lebih tinggi untuk menghasilkan efek yang sama terhadap sel T47D, sedangkan sel tanpa perlakuan menunjukkan morfologi yang normal (Gambar 3b). Sel menunjukkan adanya perubahan morfologi yang dimungkinkan karena sitoskeleton terpotong dan protein yang berperan dalam perlekatan sel tidak mengalami polimerisasi sehingga ikatan sel terlepas dan membran lipid akan membulat (Gambar 2 dan Gambar 3) (Valeriote *et al.*, 2002). Penurunan viabilitas sel dan kepadatan sel terlihat pada semakin tinggi dosis yang digunakan, serta dengan perubahan morfologi yang mengalami pengerutan merupakan penanda sel yang menuju kematian.

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat 1 adalah turunan senyawa naptokuinon dengan nama kimia *2,3-dihydro-6-hydroxy-2-methylenaphtho [1,2-b] furan-4,5-dione* yang mempunyai aktivitas sitotoksik pada sel kanker payudara jenis T47D dengan kategori aktif dengan IC_{50} 9,88 μ g/mL.

DAFTAR PUSTAKA

- Arnason, J.T., Mata, R., Romeo, J.T., 2013. *Phytochemistry of Medicinal Plants. Springer Science & Business Media*.657.
- Bray F, Jemal A, Grey N, Ferlay J, Forman D. 2012. Global Cancer Transitions According to the Human Development Index (2008–2030): A Population-Based Study.
- Choi, E.J., Kim, T., Lee, M.-S., 2007. Pro-apoptotic effect and cytotoxicity of genistein and genistin in human ovarian cancer SK-OV-3 cells. *Life Sci.* 80, 1403–1408.
- Dey P.M. 2012. *Methods in Plant Biochemistry*. Academic Press;. 565.
- Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M. 2012. Cancer Incidence and Mortality Worldwide: Sources, Methods and Major Patterns in GLOBOCAN. *Int J Cancer* 2015;136:E359–86.
- Inoue, K.; Ueda, S.; Nayeshiro, H.; Inouye, H. 1983. Quinones of *Streptocarpus dunnii*. *Phytochemistry*, 22, 737-741.
- Lo'pez, J.; De la Cruz, F.; Alcaraz, Y.; Delgado, F.; Va'zquez, M. A. Naphthoquinones: Biological Properties and Synthesis Of Lawsone and Derivatives a Sturctured Review. *Med. Chem. Res.* 2015, 24, 3599-3620.
- Pavia, D., Lampman, G., Kriz, G., dan Vyvyan, J., 2014. *Introduction to Spectroscopy*. Cengage Learning.
- Prayong, P., Barusrux, S., Weerapreeyakul, N., 2008. Cytotoxic activity screening of some indigenous Thai plants. *F6 terapia* 79, 598–601.
- Rollando, R.,2017. Isolasi, identifikasi, karakterisasi, dan antibiofilm derivat asam galat dari kulit batang *Sterculia quadrifida* R.Br. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*. 13,1-8.
- Rollando, R., dan Priianti, K.R., 2017. Fraksi etil asetat kulit batang faloak (*Sterculia quadrifida* R. Br) menginduksi apoptosis dan siklus sel pada sel kanker payudara T47D. *J. Pharm. Sci. Community* 14, 1–14.
- Rollando, R., dan Siswadi, S., 2016. Penelusuran potensi aktivitas sitotoksik fraksi kulit batang tumbuhan faloak (*Sterculia quadrifida* R. Br). *E-Publ. Ilm. Fak. Farm.* Unwahas Semarang 13, 27–32.
- Tirtanirmala, P., 2014. Pengaruh Sinergisitas Kombinasi Fraksi Brazilein Dari Kayu Secang (*Caesalpinia Sappan* L.) Dengan Cisplatin Pada Sel Kanker Payudara T47D Terhadap Efek Sitotoksik Dan Induksi Apoptosis In Vitro. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Valeriote, F., Grieshaber, C.K., Media, J., Pietraszkewicz, H., Hoffmann, J., Pan, M., 2002. Discovery and Development of Anticancer Agents from Plants. *J Exp Ther Oncol*, 2: 228–236.

7%

SIMILARITY INDEX

PRIMARY SOURCES

- 1 repository.ugm.ac.id
Internet 27 words — 1%
- 2 Wang, Qinghu, Jintao Bao, Surina Han, and Wuliji Ao. "A new 6,9'-cyclo lignan from Syringa pinnatifolia", Natural Product Research, 2015.
Crossref 26 words — 1%
- 3 Johnson, Tyler A., Karen Tenney, Robert H. Cichewicz, Brandon I. Morinaka, Kimberly N. White, Taro Amagata, Balanehru Subramanian, Joseph Media, Susan L. Mooberry, Frederick A. Valeriote, and Phillip Crews. "Sponge-Derived Fijianolide Polyketide Class: Further Evaluation of Their Structural and Cytotoxicity Properties", Journal of Medicinal Chemistry, 2007.
Crossref 24 words — 1%
- 4 Nakagawa, Hiroyuki, Yoshihisa Takaishi, Yoshinori Fujimoto, Carmenza Duque, Cristina Garzon, Mitsunobu Sato, Masato Okamoto, Tetsuya Oshikawa, and Sharif Uddin Ahmed. "Chemical Constituents from the Colombian Medicinal Plant *Maytenus* *aevis*", Journal of Natural Products, 2004.
Crossref 23 words — 1%
- 5 issuu.com
Internet 22 words — 1%
- 6 ejournal.litbang.depkes.go.id
Internet 18 words — 1%
- 7 Bhupinder PS Khambay. "Mode of action and pesticidal activity of the natural product dunnione and

of some analogues", Pest Management Science, 02/2003

Crossref

8	www.ugto.mx Internet	10 words — < 1%
9	scholar.unand.ac.id Internet	9 words — < 1%
10	repository.upi.edu Internet	8 words — < 1%
11	uad.portalgaruda.org Internet	8 words — < 1%

EXCLUDE QUOTES OFF

EXCLUDE MATCHES OFF

EXCLUDE BIBLIOGRAPHY OFF