

CYTOTOXIC, ANTIPROLIFERATIVE AND CHEMICAL COMPOUND
CHARACTERIZATION OF FRACTION OF RHIZOMA GANYONG (*Canna indica* L.)
EXTRACT ON *WIDR* CELL

Ifandari

Post-graduate Program of Doctoral Program Faculty of Biology
Universitas Gadjah Mada

ABSTRACT

Ganyong that grows in Indonesia can be grouped into two cultivars, namely red ganyong and green ganyong. While the differences between these two are known in their morphological and macronutrients content, however there are the differences in their secondary metabolites are not yet known and of great research interest and exploration. Ganyong has cytotoxicity activity against *P388* leukemia cancer cells, inhibits the growth of polyp dysplasia, and inhibits the expression factors that lead to developing of colon cancer *in vivo*. The purposes of this study were: to review the cytotoxic activity of the red and green cultivars of colon cancer *WiDr*, determine the most toxic fraction of the selected ganyong extract against *WiDr* cells, reveal the cytotoxicity and antiproliferative mechanism of fraction and also characterized the metabolites content in the fraction.

This research used red and green ganyong tuber extracts with dichloromethan and ethanol solvent. Ganyong tubers obtained from the Mojosongo area, Boyolali, Central Java. The cytotoxic activity test was conducted by *MTT assay* method on the red and green ganyong extracts and also fractions of the selected ganyong extract against *WiDr* colon cancer cells. The selected extract was fractionated by the *VLC* method with a mixed solvent of n-hexane, chloroform, ethyl acetate, ethanol and water with a certain volume ratio and produced 8 combined fractions. The cytotoxic test was conducted to obtain the most toxic selected fraction on *WiDr* cells. The selectivity test of the fraction performed against the *Vero* cells. The most toxic fraction tested cell death mechanism and cell cycles arrest with *flowcytometry* method. Antiproliferative activity and apoptotic cell death pathways were tested with immunocytochemistry method. Identifying the compound group on the extract was done with *TLC* and also *FTIR*. Identification of compounds that exist in the most toxic fraction was done by the *LC-HRMS* method. Cytotoxic data in the form of cell viability was analyzed with probit to obtain IC_{50} values and differences in treatment were analyzed using one-way Anova followed by Turkey and Duncan's post hoc test to determine differences in the result of grouping.

The results showed that the dichromethane extracts of red ganyong had the highest toxicity (IC_{50} :361.83 μ g/ml) compared to the dichloromethane extract of green ganyong, red and green ethanol extract against *WiDr* cells. The results of *VLC* fractionation red ganyong dichloromethane extract yields a combined 8 fraction. The F2 fraction indicates a high cytotoxic activity (IC_{50} :234.1 μ g/ml) compared to other factions. This fraction was triggers cell death by the pathway of necrosis (62.41%) and early apoptosis (1.64%), late apoptosis (1.92%) and inhibition of cell cycles occurring in the G0-G1 phase. *WiDr* cells treated with F2 fraction have a cell antiproliferative activity, apoptosis occurs through extrinsic pathways. The results of fraction analysis with *LC-*



UNIVERSITAS
GADJAH MADA

Aktivitas Sitotoksik Dan Antiproliferatif Fraksi Ekstrak Rhizoma Ganyong (*Canna indica* L.) Terhadap Sel *WiDr* Serta Karakterisasi Kandungan Kimia Fraksi Aktifnya

IFANDARI, Dr. Rarastoeti Pratiwi, M.Sc

Universitas Gadjah Mada, 2021 | Diunduh dari <http://etd.repository.ugm.ac.id/>

HRMS showed that the dominant compounds in the F2 fraction presumed many types of compounds from the fatty acid group. The presence of cytotoxic activity ganyong against the *WiDr* cell was demonstrated by cultivars of red ganyong in semipolar solvents. The F2 fraction indicates the existence of cytotoxic and antiproliferative activities caused by the presence of dominant compounds presumed the group of fatty acids polyunsaturated.

Keywords: cytotoxic, antiproliferative, ganyong rhizoma, active compounds, *WiDr* cell lines



UNIVERSITAS
GADJAH MADA

Aktivitas Sitotoksik Dan Antiproliferatif Fraksi Ekstrak Rhizoma Ganyong (*Canna indica L.*) Terhadap Sel *WiDr* Serta Karakterisasi Kandungan Kimia Fraksi Aktifnya

IFANDARI, Dr. Rarastoeti Pratiwi, M.Sc

Universitas Gadjah Mada, 2021 | Diunduh dari <http://etd.repository.ugm.ac.id/>

AKTIVITAS SITOTOKSIK DAN ANTIPROLIFERATIF FRAKSI EKSTRAK RHIZOMA GANYONG (*Canna indica L.*) TERHADAP SEL *WiDr* SERTA KARAKTERISASI KANDUNGAN KIMIA FRAKSI AKTIFNYA

Ifandari

Program Studi Doktor Biologi, Program Doktor Fakultas Biologi,
Universitas Gadjah Mada

INTISARI

Ganyong yang tumbuh di Indonesia dapat dikelompokkan menjadi dua kultivar yaitu ganyong merah dan ganyong hijau. Perbedaan dari dua kultivar ini baru diketahui sebatas morfologi dan kandungan makronutrientnya, sedangkan perbedaan tingkat metabolit sekundernya belum diketahui. Ganyong memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker leukemia *P-388*, menghambat pertumbuhan *polip dysplasia*, dan menghambat ekspresi faktor yang menyebabkan perkembangan kanker kolon secara *in vivo*. Tujuan penelitian ini adalah: mengkaji efek sitotoksik kultivar ganyong merah dan hijau terhadap sel kanker kolon *WiDr*, mencari fraksi yang paling toksik dari ekstrak ganyong terpilih terhadap sel *WiDr*, menentukan mekanisme sitotoksitas dan antiproliferatif dari fraksi dan juga mengkarakterisasi senyawa yang ada dalam fraksi tersebut.

Penelitian ini menggunakan ekstrak umbi ganyong merah dan hijau dengan pelarut diklorometan dan etanol. Umbi ganyong didapatkan dari daerah Mojosongo, Boyolali, Jawa Tengah. Uji aktivitas sitotoksik dilakukan dengan metode *MTT assay* pada ekstrak ganyong kultivar merah dan hijau dan juga fraksi dari ekstrak ganyong terpilih terhadap sel kanker kolon *WiDr*. Ekstrak yang terpilih difraksinasi dengan metode *VLC* dengan pelarut campuran dari n-heksan, kloroform, etil asetat, etanol, air dengan perbandingan volume tertentu dan menghasilkan 8 fraksi gabungan. Uji sitotoksik dilakukan untuk memperoleh kandidat fraksi yang paling toksik terhadap sel *WiDr*. Uji selektivitas fraksi dilakukan terhadap sel *Vero*. Fraksi paling toksik diuji kematian sel dan penghambatan siklus sel dengan *flowcytometry*. Aktivitas antiproliferatif dan jalur kematian sel secara apoptosis diuji dengan metode *Immunocytochemistry*. Identifikasi kelompok senyawa pada ekstrak dilakukan dengan KLT dan juga *FTIR*. Identifikasi senyawa yang terkandung dalam fraksi paling toksik dilakukan dengan metode *LC-HRMS*. Data sitotoksik yang berupa viabilitas sel dianalisa dengan probit untuk mendapatkan nilai IC_{50} dan perbedaan perlakuan dianalisa dengan anava satu jalan dan dilanjutkan uji *post hoc Turkey* dan *Duncan* untuk melihat hasil perbedaanya.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak diklorometan ganyong merah memiliki toksisitas paling tinggi (IC_{50} : 361,83 μ g/ml) dibandingkan ekstrak diklorometan ganyong hijau, ekstrak etanol ganyong merah dan ekstrak etanol ganyong hijau terhadap sel *WiDr*. Hasil fraksinasi *VLC* ekstrak ganyong merah diklorometan menghasilkan 8 fraksi gabungan. Fraksi gabungan 2 (F2) menunjukkan aktivitas sitotoksik yang tinggi (IC_{50} : 234,1 μ g/ml) dibandingkan fraksi yang lain. Fraksi ini memicu kematian sel dengan jalur nekrosis (62,41 %) dan apoptosis awal (1,64 %), apoptosis akhir (1,92 %) serta penghambatan siklus sel terjadi pada fase G_0 - G_1 . Sel *WiDr* yang dikenai fraksi F2 memiliki aktivitas antiproliferasi sel dan terjadi apoptosis melalui jalur ekstrinsik. Hasil analisis fraksi dengan *LC-HRMS* menunjukkan bahwa senyawa yang dominan pada fraksi F2 diduga senyawa dari jenis-jenis kelompok asam lemak tak jenuh. Adanya aktifitas sitotoksik ganyong terhadap sel *WiDr* ditunjukkan oleh kultivar ganyong merah pada pelarut semipolar.



UNIVERSITAS
GADJAH MADA

Aktivitas Sitotoksik Dan Antiproliferatif Fraksi Ekstrak Rhizoma Ganyong (*Canna indica* L.) Terhadap Sel WiDr Serta Karakterisasi Kandungan Kimia Fraksi Aktifnya

IFANDARI, Dr. Rarastoeti Pratiwi, M.Sc

Universitas Gadjah Mada, 2021 | Diunduh dari <http://etd.repository.ugm.ac.id/>

Fraksi F2 menunjukkan adanya aktivitas sitotoksik dan antiproliferatif yang disebabkan oleh adanya senyawa dominan yang diduga dari kelompok senyawa asam lemak tak jenuh.

Kata kunci: Sitotoksik, antiproliferatif, rhizoma ganyong, senyawa aktif, Sel *WiDr*