

SITOTOKSISITAS DAN IDENTIFIKASI GOLONGAN SENYAWA METABOLIT SEKUNDER DAUN GAHARU

Aquilaria malaccensis Lamk dan *Gyrinops versteegii* (Gilg.) Domke
TERHADAP SEL KANKER KOLON WiDr

Riko Irwanto

14/372563/PBI/1274

INTISARI

Tumbuhan gaharu adalah tumbuhan yang mampu menghasilkan resin pada bagian batangnya dan memiliki aroma yang khas. Tumbuhan Gaharu yang sering dibudidayakan di Indonesia adalah jenis *Aquilaria malaccensis* Lamk dan *Gyrinops versteegii* (Gilg.) Domke. Ekstrak daun kedua jenis tanaman gaharu diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi. Aktivitas antioksidan yang tinggi sering dihubungkan dengan kemampuan ekstrak tersebut sebagai anti kanker. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui fraksi potensial dan golongan senyawa dari jenis gaharu yang memiliki aktivitas sitotoksik tertinggi terhadap sel kanker kolon WiDr. Spesifisitas sitotoksik fraksi terpilih diuji pada sel Vero dan mekanisme sitotoksitas fraksi terpilih tersebut akan diuji menggunakan *flow cytometry*. Sampel daun tua *A. malaccensis* dan *G. versteegii* diperoleh dari perkebunan Gaharu di Klaten, Jawa Tengah. Ekstraksi dilakukan dengan metode soxhletasi bertingkat menggunakan pelarut kloroform, etanol dan air. Pengujian sitotoksitas sel kanker WiDr dan sel Vero dilakukan dengan *MTT assay*. Ekstrak yang paling potensial difraksinasi dengan VLC dengan berbagai pelarut dari non polar ke polar. Fraksi potensial diuji KLT dan digunakan reagen deteksi untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung di dalamnya. Uji kematian sel fraksi terpilih dilakukan dengan *flow cytometry* dan *double staining*. Penentuan IC₅₀ dihitung dengan analisis probit, sedangkan data dari hasil identifikasi golongan senyawa dan mekanisme induksi kematian sel dianalisis secara kuantitatif dan deskriptif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kloroform dan fraksi dengan eluen n-heksan:kloroform=1:1 dari daun *G.versteegii* memiliki aktivitas sitotoksik tinggi berturut-turut yaitu 224,5 µg/mL dan 12,87 µg/mL. Golongan senyawa bioaktif sebagai senyawa anti kanker adalah golongan terpenoid flavonoid, fenolik dan tannin. Uji selektivitas pada sel Vero dan WiDR menunjukkan Fraksi dengan eluen n-heksan:kloroform=1:1 bersifat selektif dengan nilai selektivitas yaitu 11,2. Mekanisme sitotoksitas fraksi ekstrak terpilih pada proses kematian sel kanker WiDr melalui jalur nekrosis dan apoptosis

Kata kunci: gaharu, sitotoksitas, WiDr, *MTT assay*, *flow cytometry*, *double staining*

CYTOTOXICITY AND IDENTIFICATION OF SECONDARY METABOLITES IN
AGARWOOD LEAVES *Aquilaria malaccensis* Lamk AND *Gyrinops versteegii* (Gilg.) Domke
ON COLON CANCER CELL LINE WiDr

Riko Irwanto

14/372563/PBI/1274

ABSTRACT

Agarwood plants known as the famous name of woody plant producing resin in the heartwood and have good fragrant. The intensive cultivation of agarwood plants are coming from *Aquilaria malaccensis* Lamk dan *Gyrinops versteegii*(Gilg.) Domke. Those leaves have high antioxidant activity. The activity of high antioxidant have strong correlation with ability of leaves extract as anticancer. The purposes of this research are to determined the potential fraction and to identify the group of compound content from two species agarwood with the highest cytotoxicity on colon cancer cell lines WiDr. The specificity of potential extract was tested on Vero cells and the mechanism of cytotoxicity of potential extract was analyzed using *flow cytometry* methods. Agarwood leaves samples of *A. malaccensis* dan *G. versteegii* were collected from Agarwood Orchard in Klaten, Central Java. Samples were extracted using soxhletation method with 3 solvents such as chloroform, ethanol and aquadest. The cytotoxicity of each extract was analyzed using MTT assay on WiDr cells and Vero cells. The most potent extract was fractionated using VLC method with nonpolar to polar solvents. The most potent fraction was monitored using TLC method and detected using detector reagent to obtain the group of compound in fraction. The cell death mechanisms of the most potent fraction were analyzed using *flow cytometry* and *double staining* methods. The determination of IC₅₀ value was calculated using probit analysis, whereas the data of the group compound and cell death were analyzed descriptively and qualitatively. The results showed that the chloroform extract of *G.versteegii* leaves and the fraction that eluted by n-hexane: chloroform (1:1) have the highest cytotoxicity value with 224,5 and 12,87 µg/mL, respectively. The group of compound were potentially as anticancer including terpenoids, flavonoids, phenolics and tannins. The selectivity assay on Vero and WiDr cells showed the potent fraction that eluted by n-hexane: chloroform (1:1) as the highest selectivity with index value 11,2. The cytotoxicity of potential extract fraction induced necrosis and apoptosis on cancer cell line WiDr, there by potentially developed as an colon cancer therapy.

Key words: agarwood, cytotoxicity, WiDr, *MTT assay*, *flow cytometry*, *double staining*