

EKSPRESI PROCASPASE-3 DAN CASPASE-3 PADA SEL KANKER USUS BESAR WiDr SETELAH PERLAKUAN FRAKSI AKTIF EKSTRAK METANOLIK BEKATUL PADI HITAM (*Oryza sativa* L.) ‘CEMPO IRENG’

Fahrunnida

12/329890/BI/08857

INTISARI

Beras hitam merupakan beras yang kaya akan antosianin. Bekatul beras hitam mengandung lebih banyak antosianin. Antosianin diketahui memiliki aktivitas antikanker karena mampu menginduksi apoptosis pada sel kanker. Penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa fraksi hasil pemisahan ekstrak bekatul beras hitam ‘Cempo Ireng’ dengan metode VLC dapat menginduksi apoptosis pada sel kanker usus besar. Selain itu, fraksi aktif ekstrak tersebut yang dipisahkan dengan metode KLTP juga telah diketahui mampu menginduksi apoptosis sel T47D dan HeLa. Akan tetapi, kajian tentang ekspresi protein yang meregulasi apoptosis seperti caspase-3 belum dilakukan, sehingga mekanisme apoptosis pada sel kanker yang diberi perlakuan fraksi aktif tersebut belum diketahui. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui sitotoksisitas fraksi aktif ekstrak metanolik bekatul beras hitam ‘Cempo Ireng’ hasil pemisahan KLTP terhadap sel WiDr serta ekspresi protein procaspase-3 dan caspase-3 sel WiDr setelah perlakuan fraksi aktif tersebut. Metode penelitian meliputi MTT Assay untuk menentukan sitotoksisitas fraksi serta SDS-PAGE dan Western Blot untuk menganalisis ekspresi protein procaspase-3 dan caspase-3 pada kultur WiDr. Dari penelitian diketahui bahwa fraksi aktif tersebut memiliki nilai sitotoksisitas terendah sebesar 102,33 $\mu\text{g/mL}$ yang tergolong sebagai sitotoksisitas moderat. Nilai sitotoksisitas tersebut dihasilkan oleh fraksi F2. Selanjutnya, fraksi F2 digunakan sebagai perlakuan dalam analisis ekspresi protein sel WiDr bersama fraksi F4, yang dari penelitian sebelumnya telah diketahui dapat menyebabkan sebagian besar sel kanker payudara (T47D) dan serviks (HeLa) mengalami apoptosis dengan persentasi lebih besar dari doxorubicin. Berdasar analisis hasil Western Blot diketahui bahwa sel kanker usus besar WiDr yang diberi perlakuan fraksi F2 ekstrak metanolik beras hitam ‘Cempo Ireng’ hasil pemisahan KLTP mampu menurunkan ekspresi procaspase-3 dan meningkatkan ekspresi caspase-3 yang mengindikasikan diaktifkannya caspase-3 dalam sel WiDr yang diberi perlakuan fraksi F2.

Kata kunci: bekatul beras hitam, caspase-3, sitotoksisitas, WiDr, Western Blot

EXPRESSION OF PROCASPASE-3 AND CASPASE-3 IN COLON CANCER WiDr AFTER ‘CEMPO IRENG’ BLACK RICE (*Oryza sativa* L.) BRAN METHANOLIC EXTRACT ACTIVE FRACTIONS TREATMENT

Fahrunnida

12/329890/BI/08857

ABSTRACT

Black rice has black bran which is rich with anthocyanin. Anthocyanin is known to have anticancer activity because of its apoptosis induction capability in cancer cells. Previous studies showed that active fraction from VLC separation of ‘Cempo Ireng’ black rice bran extract can induce apoptosis in colon cancer. Beside, active fraction from similar extract which was separated by TLC-Preparative was also known to be able to induce apoptosis in T47D and HeLa cells. Nevertheless, the study of caspase-3, the main protein in apoptosis regulation, expression in the cancer cell treated with the fraction is not yet done. Thus, the apoptosis mechanism in cancer cells treated with the fraction was not known. This research was aimed to evaluate the cytotoxic effect of active fraction of ‘Cempo Ireng’ black rice bran methanolic extract which was separated by TLC-Preparative and the expression of procaspase-3 and caspase-3 protein in WiDr cells after treatments. Research methods included MTT Assay for determining the cytotoxicity of the fraction and Western Blot for analyzing procaspase-3 and caspase-3 expression in WiDr cells. The results showed that the fraction had the lowest cytotoxicity as many as 102.33 $\mu\text{g}/\text{mL}$ which was classified as moderate cytotoxicity. That cytotoxicity value was produced by fraction F2, which subsequently used for treatment in protein analysis, in conjunction with fraction F4 which was able to make most of breast and cervix cancer cells undergoing apoptosis rather than necrosis in the previous research with higher apoptosis percentage than the doxorubicin percentage. Based on Western Blot analysis, WiDr cells treated with fraction F2 reduced the expression procaspase-3 and increased the expression caspase-3 which indicated caspase-3 activation was occurred in WiDr cells treated with fraction F2.

Keywords: Black rice bran, caspase-3, cytotoxicity, WiDr, Western Blot