

PENGARUH FRAKSI ETANOLIK BEKATUL BERAS HITAM
(*Oryza sativa* L.) ‘TORAJA’ TERHADAP AKTIVITAS
SITOTOKSIK DAN EKSPRESI CASPASE 3 PADA SEL KANKER
USUS BESAR WiDr

Mega Ayu Oktavina

Program Pascasarjana Fakultas Biologi

Universitas Gadjah Mada

ABSTRAK

Beras hitam banyak mengandung antosianin yang mampu menghambat pertumbuhan sel kanker. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh fraksi aktif bekatul beras hitam ‘Toraja’ terhadap sel kanker usus besar WiDr. Beras hitam diekstraksi secara maserasi dengan ethanol-HCl. Ekstrak dipisahkan menjadi beberapa kelompok senyawa yang disebut fraksi dengan metode KLTP dengan solven butanol : asam asetat : air (4:1:5). Uji sitotoksik ekstrak dan fraksi dilakukan dengan metode *MTT Assay*. Fraksi aktif digunakan untuk pengujian selanjutnya meliputi uji antiproliferasi dengan metode *doubling time*, induksi apoptosis dan pengamatan siklus sel dengan *flowcytometri* dan deteksi ekspresi protein Caspase-3 dengan *Western Blott*. Deteksi kandungan Cyanidin-3-glucoside dan Pheonidin-3-glucoside pada ekstrak maupun fraksi aktif dilakukan dengan metode HPLC. Data dianalisis secara diskriptif untuk membandingkan antara kontrol dan perlakuan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak bekatul memiliki IC_{50} $1500,77 \pm 2,284 \mu\text{g/ml}$. Hasil pemisahan ekstrak menunjukkan bahwa ekstrak terdiri dari 6 fraksi. Fraksi 6 merupakan fraksi teraktif dengan IC_{50} $552,45 \pm 1,32 \mu\text{g/ml}$. Fraksi aktif mampu menghambat proliferasi sel dengan menginduksi terjadinya apoptosis ($17,455 \pm 0,53$ %) dan menghambat siklus sel di fase G2/M. Ekspresi Caspase 3 aktif tidak terdeteksi baik pada kontrol maupun sel yang diberi fraksi aktif. Ekstrak dan fraksi aktif terdeteksi mengandung Cyanidin-3-glucoside sebesar 26,84 dan 2,78 ppm namun tidak terdeteksi mengandung Pheonidin-3-glucoside.

Kata kunci : Beras hitam ‘Toraja’, ekstrak etanolik, Cyanidin-3-glucoside sitotoksik, sel WiDr

THE EFFECT OF BLACK RICE (*Oryza sativa* L.) 'TORAJA'
BRAN ETHANOLIC FRACTION ON CYTOTOXIC ACTIVITY
AND CASPASE 3 EXPRESSION OF WiDr
COLON CANCER CELLS

Mega Ayu Oktavina

Program Pascasarjana Fakultas Biologi

Universitas Gadjah Mada

ABSTRACT

Black rice which contains rich anthocyanin able to inhibit the growth of cancer cells. This study investigated an inhibitory effect of 'Toraja' black rice active fraction on human colon cancer WiDr cell growth. Black rice bran was extracted with ethanol-HCl. The extract fractions were separated by preparative TLC. The cytotoxicity of black rice bran extract and fractions were tested by MTT Assay. The active fraction was evaluated for cell proliferation effect by doubling time method. Apoptosis induction and cell cycle arrest were measured by flow cytometry methods. Procaspase 3 and caspase 3 expressions were detected by Western Blott. Cyanidin-3-glucoside-3-glucoside in black rice bran extract and fraction was detected by HPLC. Results showed that fraction 6 (F6) was more toxic (IC_{50} value $552.45 \pm 1.32 \mu\text{g/ml}$) than the extract (IC_{50} value $1500.77 \pm 2.284 \mu\text{g/ml}$). This active fraction showed WiDr cell proliferation inhibition. Further, active fraction F6 could induced cell apoptosis ($17.45 \pm 0.53\%$) and promoted G2/M cell cycle arrest. However, only procaspase 3 was detected in cells control. Cyanidin-3-glucoside was determined both in extract (26,84 ppm) and the active fraction (2,78ppm). Therefore, the active fraction 6 of 'Toraja' black rice bran containing Cyanidin-3-glucoside inhibits the growth of human colon cancer WiDr cells.

Keywords: Cyanidin-3-glucoside, cytotoxicity, ethanolic extract, 'Toraja' black rice, WiDr cells