

14 HC_Antikanker pdf

by - -

Submission date: 17-Mar-2023 07:47PM (UTC-0500)

Submission ID: 2039723489

File name: 14.HC_Antikanker.pdf (997.06K)

Word count: 4583

Character count: 25952

KARYA ILMIAH



**AKTIVITAS ANTI-KANKER EKSTRAK AIR
DAN ETANOL BERAS HITAM (*Oryza sativa* L. indica)
TERHADAP SEL KANKER SERVIKS HeLa**

Oleh

Dr. Fadjar Kurnia Hartati, MP.

Ir. Arlin Besari Djauhari, MP.

Ir. Restu Tjiptaningdyah, MKes.

22

**JURUSAN TEKNOLOGI PERTANIAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS Dr. SOETOMO
SURABAYA
2019**

Abstrak

Kanker merupakan penyakit yang memiliki prevalensi tinggi di dunia dan dapat berujung pada kematian. Salah satu jenis kanker yang sering menyerang wanita adalah kanker serviks. Beras hitam diketahui mengandung senyawa yang berpotensi dalam farmakologis, salah satunya sebagai antikanker. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar flavonoid ekstrak etanol dan air beras hitam, aktivitas antioksidan dan aktivitasnya terhadap sel kanker serviks HeLa. Metode yang dilakukan dalam penelitian ini adalah mengukur kadar flavonoid, mengetahui aktivitas antioksidan dan pemberian ekstrak etanol dan air beras hitam pada sel kanker serviks HeLa. Parameter yang diuji meliputi viabilitas sel menggunakan reagen WST-1, kemampuan menginduksi apoptosis sel menggunakan pewarna AnnexinV/PI, dan penghambatan siklus sel menggunakan pewarna PI dengan analisa *flow cytometry*.

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan 3 replikasi. Perlakuan yang dilakukan yakni kontrol (0 µg/mL), dosis I (50 µg/mL), dosis II (100 µg/mL), dosis III (200 µg/mL) dan Cisplatin 1,5 µg/mL. Analisis data hasil analisa *flow cytometry* menggunakan software CellQuestPro. Data viabilitas sel dianalisis dengan *One way* Anova dengan uji lanjutan tukey ($\alpha = 0.05$) pada minitab 16. Hasil dari uji viabilitas sel menunjukkan bahwa kedua ekstrak mampu menghambat pertumbuhan sel HeLa. Baik ekstrak etanol maupun ekstrak air beras hitam dapat menghambat siklus sel HeLa pada fase G0/G1 dan G2/M. Kedua ekstrak mampu menginduksi apoptosis pada sel HeLa. Kesimpulan yang diperoleh adalah ekstrak etanol maupun ekstrak air beras hitam berpotensi sebagai antikanker pada sel HeLa.

Kata kunci: antikanker; antioksidan; beras hitam; sel HeLa; siklus sel

Abstract

Cancer is a disease that has a high prevalence in the world and can lead to death. One type of cancer that often attacks women is cervical cancer. Black rice is known to contain 21 compounds that have potential in pharmacology, one of which is anticancer. This study aims to determine the levels of flavonoids of ethanol and black rice water extracts, antioxidant 25 activity and their activity on HeLa cervical cancer cells. The method used in this study was to measure flavonoid levels, determine antioxidant activity and administration of ethanol and black rice water extracts to HeLa cervical cancer cells. The parameters tested included cell viability using WST-1 reagent, ability to induce cell apoptosis using AnnexinV / PI dyes, 5 and cell cycle inhibition using PI dyes by analyzing flow cytometry.

This study used a completely randomized design (CRD) with 45 treatments and 3 replications. The treatments were control (0 µg / mL), dose I (50 µg / mL), dose II (100 µg / mL), dose III (200 µg / mL) and Cisplatin 1.5 µg / mL. Analysis 16 of data from flow cytometry analysis using CellQuestPro software. Cell viability data were analyzed by One way Anova with a tukey advanced test ($\alpha = 0.05$) on minitab 16. The results of cell viability tests showed that both extracts were able to inhibit HeLa 23 growth. Both ethanol extract and black rice water extract can inhibit the HeLa cell cycle in the G0 / G1 and G2 / M phases. Both extracts can induce apoptosis in HeLa cells. The conclusions obtained were ethanol extract and black rice water extract potentially as anticancer in HeLa cells.

Keywords: *anticancer; antioxidants; black rice; HeLa cells; cell cycle*

KATA PENGANTAR

Dengan mengucapkan puji syukur ke hadirat Allah SWT, Artikel Ilmiah dengan judul “**Aktivitas Antikanker Ekstrak Etanol dan Air Beras Hitam (*Oryza sativa* L. indica) Terhadap Sel Kanker Serviks HeLa**” ini dapat kami selesaikan. Baik dalam pelaksanaan penelitian maupun dalam penyusunan Artikel Ilmiah ini tidak lepas dari kesulitan dan hambatan, namun berkat bantuan dan kerjasama yang baik dari beberapa pihak, akhirnya Artikel Ilmiah ini selesai tepat pada waktunya. Pada kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada yang terhormat :

1. Kementerian Riset Teknologi dan Pendidikan Tinggi, yang telah memberikan kesempatan dan mendanai penulis untuk bisa melaksanakan penelitian ini.
2. Dr. Bahrul Amiq, SH., MH., selaku Rektor Universitas Dr. Soetomo Surabaya, yang selalu mendukung para peneliti.
3. Dr. Sri Utami Ady, SE,MM. selaku Ketua Lembaga Penelitian Universitas Dr. Soetomo Surabaya, yang selalu berupaya untuk mendapatkan dukungan pendanaan bagi penelitian dosen di lingkungan Universitas dr. Soetomo Surabaya.
4. Ir. A. Kusyairi, M.Si selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Dr. Soetomo Surabaya yang telah memberi kesempatan dan kepercayaan kepada penulis.
5. Semua pihak yang tidak bisa kami sebutkan satu persatu, atas semua dukungannya.

Penulis menyadari bahwa Artikel Ilmiah ini masih jauh dari sempurna, untuk itu penulis mengharapkan kritik, saran dan masukan yang sifatnya membangun demi kesempurnaan Artikel Ilmiah ini, semoga dapat bermanfaat dan berguna baik bagi diri kami maupun pihak lain yang membacanya.

Surabaya, September 2019

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
12 ALAMAN SAMBUL	i
ABSTRAK	ii
ABSTRACT	iii
KATA PENGANTAR	7
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
BAB 2 METODE PENELITIAN	2
• Bahan-bahan	2
• Pembuatan ekstrak etanol dan air beras hitam	2
• Kultur sel kanker	3
• Pembuatan sel normal (PBMC/peripheral blood mononuclear cells)	3
• Uji viabilitas sel dengan metode WST-1	3
• Analisis Siklus Sel	4
• Analisis Apoptosis Sel	4
BAB 3 HASIL DAN PEMBAHASAN	5
• Viabilitas sel	5
• Siklus sel	7
• Apoptosis	9
BAB 4. KESIMPULAN	10
DAFTAR PUSTAKA	10

DAFTAR TABEL

Tabel 1	Nilai IC ₅₀ viabilitas sel HeLa	Halaman 6
---------	--	--------------

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1 Grafik viabilitas sel dengan pemberian ekstrak etanol beras hitam	5
Gambar 2 Grafik viabilitas sel dengan pemberian ekstrak air beras hitam	6
Gambar 3 Distribusi sel HeLa pada fase siklus sel setelah pemberian ekstrak etanol pada berbagai konsentrasi	7
Gambar 4 Distribusi sel HeLa pada fase siklus sel setelah pemberian ekstrak air pada berbagai konsentrasi	8
Gambar 5 Apoptosis pada sel HeLa akibat pemberian ekstrak etanol dan air beras hitam	9

1 PENDAHULUAN

Kanker serviks memiliki prevalensi yang cukup tinggi di dunia dan sering berujung kematian. Insiden kanker ini berkembang lebih cepat di negara berkembang¹, termasuk di Indonesia. Sedangkan upaya pengobatan kanker yang telah dilakukan seperti radioterapi, operasi, dan kemoterapi sering menimbulkan efek negatif². Berdasarkan keadaan ini maka perlu dilakukan penelitian untuk memperoleh bahan yang berpotensi sebagai antikanker.

Sel kanker berasal dari sel normal yang kehilangan kemampuan untuk mengatur siklus sel, proliferasi sel yang tidak terkontrol dan tidak mengenal apoptosis³. Akibatnya sel-sel tersebut membelah dengan cepat dan tidak terkontrol (Frank dkk., 2003). Hal ini merupakan faktor yang paling penting dalam perkembangan kanker. Penelitian-penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa berbagai bahan kimia yang berasal dari tanaman obat menunjukkan aktivitas antikanker dengan memodulasi regulasi siklus sel dan / atau apoptosis^{4,5}, sehingga dianggap pendekatan yang sangat baik dalam pengobatan kanker. Selain itu, modulasi awal stres oksidatif oleh antioksidan eksogen seperti curcumin, resveratrol, catechin, ginseng, dan konsumsi makanan yang kaya vitamin dan antioksidan telah terbukti bermanfaat untuk mencegah kanker^{6,7}. Polifenol dari tanaman merupakan kelompok senyawa yang mempunyai aktivitas sebagai antikanker dan antiinflamasi. Polifenol mampu menghambat stres oksidatif oleh oksigen reaktif spesies nitrogen / reaktif (ROS / RNS), yang terlibat dalam kerusakan DNA yang terlibat dalam mutagenesis, karsinogenesis, dan penuaan dini^{6,8}. Radikal bebas bereaksi dengan purin, pirimidin, dan protein kromatin yang mengarah ke perubahan modifikasi dasar, tidak, genom, dan perubahan genetik, sehingga terjadi perubahan siklus sel dan sinyal apoptosis. Akibatnya proliferasi sel tidak terkontrol dan terbentuklah tumor⁹. Oleh karena itu, mencegah ROS / RNS yang merupakan penyebab utama kerusakan biomolekul seluler telah muncul sebagai strategi menarik untuk mencegah kanker^{10,11}.

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa beras hitam (*Oryza sativa* L.) merupakan salah satu alternatif makanan pokok yang sehat karena komponen bioaktifnya, terutama antosianin dan fenol^{12,13,14,15,16,17}, flavonoid dan γ -oryzanol dan tocol^{18,19}. Ekstrak antosianin beras hitam dilaporkan dapat

menghambat sel kanker liver²⁰, menurunkan kadar kolesterol, trigliserida, LDL (Low Density Lipoprotein) dan meningkatkan HDL (High Density Lipoprotein) dan sangat potensi untuk terapi kardiovaskuler^{21,22,23}, dapat meningkatkan fungsi limpa, liver, lambung dan usus, juga sebagai agen *hematopoietic* dibidang farmasi²⁴, mencegah arterosklerosis²⁵, anti-inflamatori²⁶, bahkan Nontasan²⁷ memanfaatkan dedak beras hitam sebagai pewarna alami dan Hou, *et al*¹³ mengamati pengaruh ekstrak dedak beras hitam sebagai antioksidan dan hepatoprotektif. Adapun penelitian yang kami lakukan adalah mengamati aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol dan air beras hitam yang merupakan dasar penggunaannya sebagai antikanker. Untuk mengevaluasi efek sitotoksik suatu agen kemoterapi, perlu dilakukan perbandingan pada sel-sel kanker dan sel sehat (dari sel darah perifer manusia mononuklear/PBMC).

2 METODE

Bahan-bahan

The analytical grade chemicals were purchased from Merck (Germany). Standard drugs were purchased from Sigma-Aldrich chemicals co. (Germany). Beras hitam (*Oryza sativa* L.indica) yang digunakan varietas Wojalaka berasal dari Kepanjen, Malang, Jawa Timur, Indonesia. Menurut Shinta dkk²⁸, varietas ini termasuk dalam kelompok *Indica*.

Pembuatan ekstrak etanol dan air beras hitam

Beras hitam dikeringkan dan dihaluskan (\pm 80 mesh) menjadi simplisia. Ekstrak etanol diperoleh dari simplisia yang dimaserasi dalam etanol 96% (simplisia kering:etanol 1:10 (g/ml) selama 24 jam, sedangkan ekstrak air diperoleh dari simplisia yang dimaserasi dengan aquades selama 12 jam, dengan beberapa kali pengadukan. Setelah itu disaring untuk memisahkan ampas dan filtratnya. Selanjutnya filtrat etanol dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* suhu $40 \pm 5^\circ\text{C}$ hingga kental dan dikeringkan dengan pengering beku kemudian ditimbang untuk menentukan rendemen. Filtrat air dikeringkan dengan pengering beku suhu ($- 40^\circ\text{C}$).

Kultur sel kanker

Sel HeLa ditumbuhkan dalam media pertumbuhan yang terbuat dari DMEM yang ditambahkan dengan 10% FBS dan 0,5% antibiotik penisilin streptomisin. Sel diinkubasi dalam suhu 37°C dengan kondisi CO₂ 5%. Pertumbuhan sel diamati setelah 24 jam sel inkubasi diikuti dengan penggantian media pertumbuhan. Pemanenan sel dilakukan setelah pertumbuhan sel mencapai konfluen 80%. Media pertumbuhan dibuang, kemudian sel dicuci dengan PBS sebanyak 2 kali. Sel ditambahkan dengan 1 mL trypsin-EDTA, kemudian diinkubasi 2 menit. Aktifitas enzimatis dari trypsin-EDTA dihentikan dengan penambahan media pertumbuhan. Penghitungan jumlah sel dilakukan dengan menambahkan 50 µL suspensi sel dengan 50 µL pewarna *evan blue*. Suspensi ditetaskan pada permukaan hemositometer dan ditutup dengan *cover glass*. Penghitungan dilakukan di bawah mikroskop sebanyak 5 bidang pandang kotak kecil. Kemudian dimasukkan ke dalam rumus: $\Sigma \text{sel yang diamati} \times 5 \times \text{fp} \times 10^4$ (fp= faktor pengenceran)

Pembuatan sel normal (PBMC/peripheral blood mononuclear cells)³¹

Sampel darah diperoleh dari 2 relawan yang berasal dari Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, Indonesia. Sampel darah dihomogenkan, dicampur dengan PBS 1:1, diambil dengan mikropipet dan dialirkan secara perlahan pada dinding tabung sentrifuge 15 ml yang sudah diisi dengan Ficoll-Hypaque 1077 maka akan terbentuk 2 lapisan dan tidak bercampur. Kemudian disentrifuge (20°C, 1500rpm, 30 menit) maka akan terbentuk 3 lapisan. Cincin PBMC yang terbentuk diambil secara perlahan dengan mikropipet dan diletakkan dalam tabung sentrifuge 15 ml, dicuci dengan PBS 5 ml dan disentrifuge (10°C, 2500 rpm, 5 menit). Supernatan dibuang dan pelet sel yang terbentuk dicuci kembali dengan PBS 1 ml dan segera ditreatment.

Uji viabilitas sel dengan metode WST-1

Suspensi sel didistribusikan dalam sumuran 24 *well plate* dengan kepadatan $1,5 \times 10^5$ sel/100 µL media. Sel diinkubasi pada kondisi 37°C 5% CO₂ selama 24 jam. Setelah 24 jam, media pertumbuhan dibuang dan diganti dengan

media perlakuan ekstrak etanol dan air beras hitam (kontrol media, kontrol cisplatin 1,5 µg/ml, 50,100 dan 200 µg/ml). PBMC yang telah disiapkan, juga ditambah media perlakuan seperti di atas. Sel diinkubasi pada kondisi 37°C 5% CO2 selama 48 jam. Setelah 48 jam inkubasi, 5 µL reagen WST-1 ditambahkan ke dalam setiap sumuran. Kemudian sel diinkubasi pada kondisi 37°C 5% CO2 selama 30 menit. Selanjutnya, dihitung nilai absorbansi pada gelombang 450 nm. Nilai absorbansi yang diperoleh digunakan untuk perhitungan nilai viabilitas sel (CV) dan penentuan nilai IC50^{32,33}. Rumus untuk menghitung viabilitas sel sebagai berikut:

$$CV = \frac{\text{Absorbansi perlakuan} - \text{Absorbansi kontrol media}}{\text{Absorbansi kontrol sel} - \text{Absorbansi kontrol media}} \times 100\%$$

Analisis Siklus Sel

Suspensi sel kanker didistribusikan dalam sumuran 12 *well plate* dengan kepadatan 1,5x10⁵ sel/1 mL media. Sel diinkubasi pada kondisi 37°C 5% CO2 selama 24 jam. Setelah 24 jam, media pertumbuhan dibuang dan diganti dengan media perlakuan ekstrak etanol dan air beras hitam (kontrol media, kontrol cisplatin 1,5 µg/ml, 50,100 dan 200 µg/ml). Sel diinkubasi pada kondisi 37°C 5% CO2 selama 24 jam. Sel dipanen dengan metode tripsinasi. Suspensi sel setiap perlakuan ditampung dalam tabung propilen. Selanjutnya suspensi sel disentrifugasi 2500 rpm 10°C 5 menit, supernatan diaspirasi. Pelet ditambahkan PBS sebanyak 1 mL, kemudian disentrifugasi 2500 rpm 10°C 5 menit, supernatan diaspirasi. Pelet ditambahkan 1 mL alkohol 70% dan diinkubasi dalam es selama 30 menit. Selanjutnya suspensi sel disentrifugasi 2500 rpm 10°C 5 menit, supernatan diaspirasi. Pelet ditambahkan 1 mL PBS, dan disentrifugasi kembali pada 2500 rpm 10°C 5 menit, supernatan diaspirasi. Pelet diresuspensi 50 µL pewarna Propidium Iodide (5 µg/ml) dan diinkubasi selama 30 menit dalam kondisi dingin dan gelap. Suspensi sel ditambahkan 400 µL PBS dan dianalisa menggunakan *flowcytometer*.

Analisis Apoptosis Sel

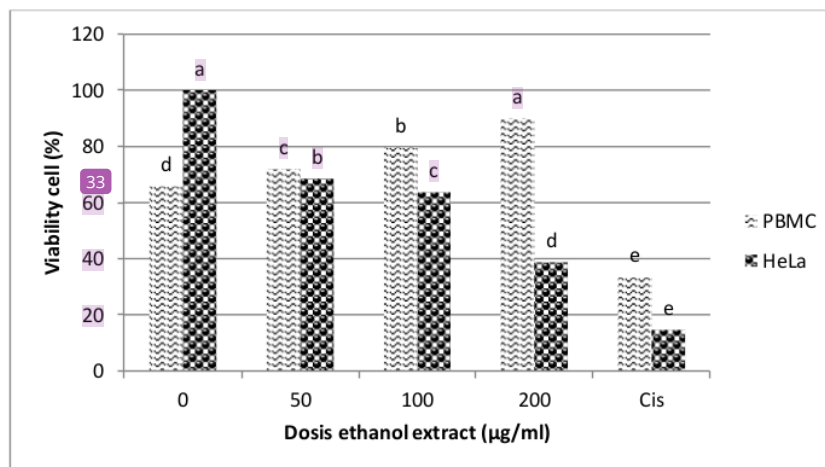
Suspensi sel kanker dan PBMC didistribusikan dalam sumuran 12 *well plate* dengan kepadatan 1,5x10⁵ sel/1 mL media. Sel diinkubasi pada kondisi

37°C 5% CO₂ selama 24 jam. Setelah 24 jam, media pertumbuhan dibuang dan diganti dengan media perlakuan ekstrak etanol dan air beras hitam (kontrol media, kontrol cisplatin 1,5 µg/ml, 50,100 dan 200 µg/ml). Sel diinkubasi pada kondisi 37°C 5% CO₂ selama 24 jam. Sel dipanen dengan metode tripsinasi. Suspensi sel setiap perlakuan ditampung dalam tabung propilen. Selanjutnya suspensi sel disentrifugasi 2500 rpm 10°C 5 menit, supernatan diaspirasi. Pelet ditambahkan PBS sebanyak 1 mL, kemudian disentrifugasi 2500 rpm 10°C 5 menit, supernatan diaspirasi. Pelet diresuspensi dengan 50 µL pewarna annexinV/PI dan diinkubasi selama 30 menit dalam kondisi dingin dan gelap. Suspensi sel ditambahkan 400 µL PBS, selanjutnya dianalisa menggunakan *flowcytometer*.

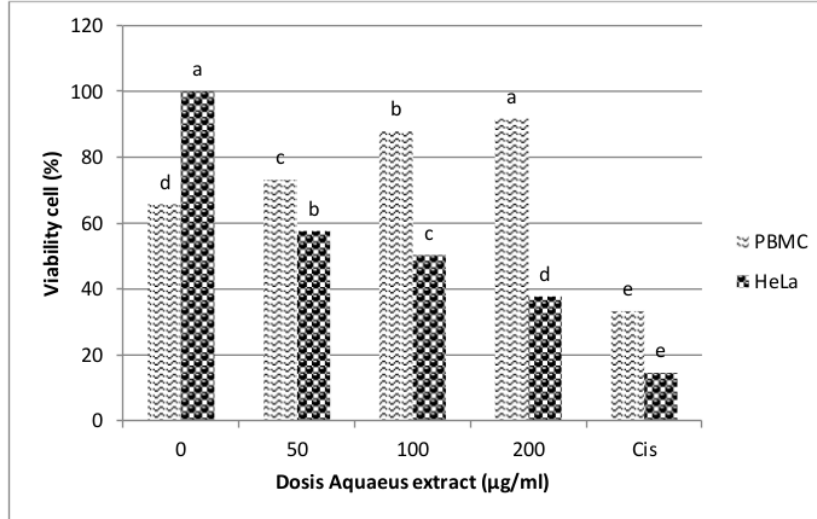
3 HASIL DAN PEMBAHASAN

Viabilitas sel

Hasil pemberian ekstrak etanol dan air beras hitam pada sel HeLa dan PBMC selama 48 jam, menunjukkan bahwa ekstrak etanol dan air beras hitam mampu menghambat pertumbuhan sel HeLa tapi aman terhadap sel normal. Hal ini ditunjukkan dengan penghambatan proliferasi pada sel HeLa, sedangkan persentase kehidupan sel PBMC mengalami peningkatan seiring dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak yang diberikan (Gambar 1 dan 2).



Gambar 1. Grafik viabilitas sel dengan pemberian ekstrak etanol beras hitam



Gambar 2. Grafik viabilitas sel dengan pemberian ekstrak air beras hitam

Berdasarkan hasil uji viabilitas sel yang telah diperoleh, dapat dikatakan bahwa ekstrak etanol dan air beras hitam yang digunakan berpotensi sebagai antikanker. Hal ini dapat dilihat dari kemampuan ekstrak etanol dan air beras hitam dalam menghambat proliferasi sel HeLa. Menurut Caro, et al⁴¹, beras hitam mengandung komponen bioaktif seperti antosianin (cyanidin, pelargonidin, dan peonidin), karotenoid (lutein, zeaxanthin, likopen dan β -karoten), γ -oryzanol, flavon dan flavonoid (luteolin, apigenin, quercetin dan isorhamnetin). Fenol dan flavonoid merupakan senyawa antioksidan yang mampu melawan stres oksidatif dan penyakit degeneratif, termasuk kanker^{34,35}.

Tabel 1. Nilai IC₅₀ viabilitas sel HeLa

Ekstrak	IC ₅₀ (µg/ml)	
	PMBC	HeLa
BE	0,8284 ^b	3,4444 ^b
BA	0,6985 ^a	3,0916 ^a

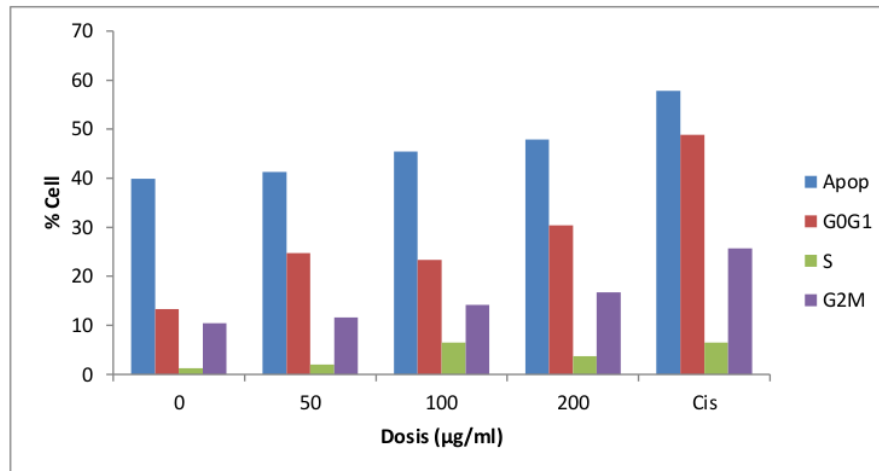
Keterangan: Notasi yang berbeda menunjukkan berbeda nyata menurut uji BNT ($\alpha=0,05$)

Nilai IC₅₀ yang diperoleh dari perhitungan persamaan grafik viabilitas sel HeLa dan PMBC dengan ekstrak etanol dan air beras hitam dapat dilihat pada Tabel 3. Berdasarkan nilai IC₅₀ dan hasil uji viabilitas sel yang diperoleh, dapat dikatakan bahwa ekstrak etanol dan air beras hitam mampu menghambat pertumbuhan sel HeLa. Menurut NCI (National Cancer Institute), tingkat

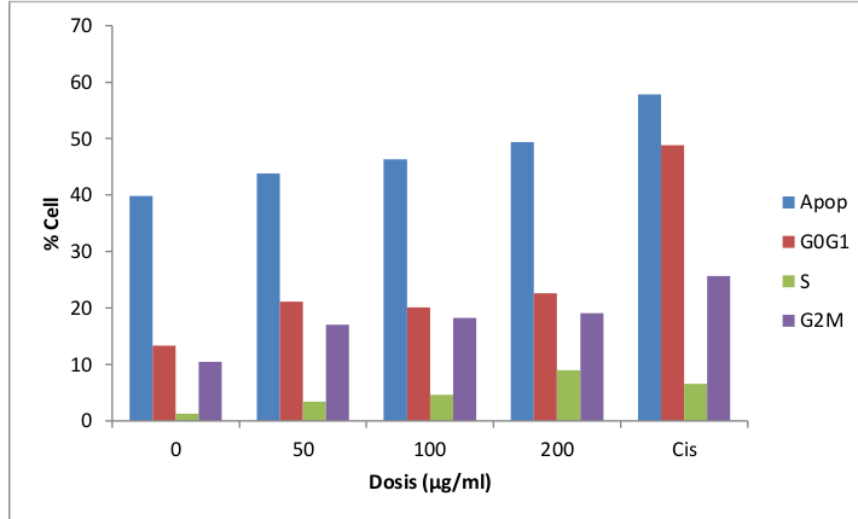
sitotoksik sebuah ekstrak kasar terhadap sel kanker harus lebih rendah dari 30 $\mu\text{g/ml}^{42}$.

Siklus sel

Pemberian ekstrak etanol dan air beras hitam menunjukkan persentase akumulasi sel relatif pada fase apoptosis, G0G1, S dan G2M lebih besar bila dibandingkan dengan kontrol. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin tinggi akumulasi sel pada fase apoptosis, G0G1, S dan G2M pada sel HeLa (Gambar 3 dan 4).



Gambar 3. Distribusi sel HeLa pada fase siklus sel setelah pemberian ekstrak etanol pada berbagai konsentrasi



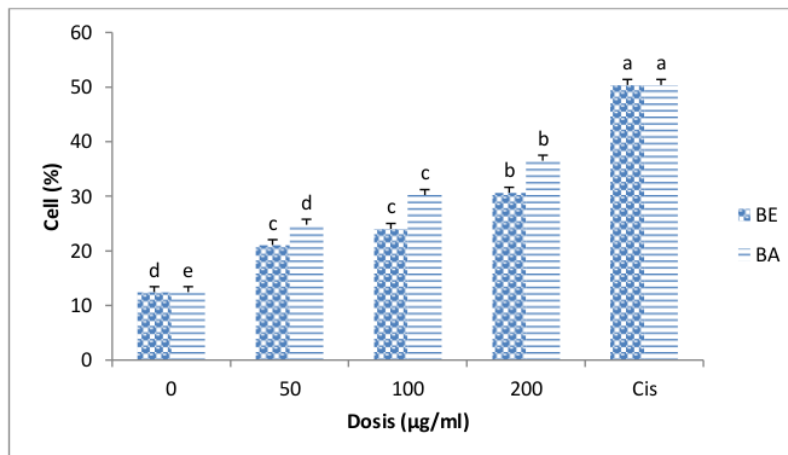
Gambar 4. Distribusi sel HeLa pada fase siklus sel setelah pemberian ekstrak air pada berbagai konsentrasi

Siklus sel dipengaruhi aktivitas *cyclin dependent kinase* (CDK) dimana sebagai regulator siklus sel membutuhkan ikatan dengan subunit regulator yang dikenal sebagai *cyclin*. *Cyclin* disintesis dan dirusak pada waktu tertentu sesuai dengan fase siklus sel. Molekul CDK terdiri dari tiga interfase dalam melakukan regulasi siklus sel (CDK2, CDK4, dan CDK6; pada sel-sel yang terspesialisasi/terdiferensiasi), satu CDK mitotik (CDK1; kemampuan dasar untuk membelah) dan sepuluh *cyclin* yang terbagi dalam empat kelas berbeda (*cyclin* jenis A, B, D dan E)^{43,44}. *Cyclin* D1 memudahkan proliferasi sel kanker. Kerja *cyclin* D1 secara spesifik adalah menonaktifkan protein retinoblastoma (Rb protein) yang fungsinya mencegah pembelahan sel⁴⁵.

Harper & Geoffrey⁴⁶ menyatakan bahwa sebuah obat dapat menyebabkan G2/M *arrest* dengan cara menghambat *cdc2*. *cdc2* berperan penting dalam *checkpoint* G2, sebelum menginiasi fase mitosis. Sarmoko & Larasati⁴⁷ menerangkan bahwa *cdc2* diatur oleh fosforilasi pada treonin-14 (T14) dan tirosin-15 (Y15). Defosforilasi *cdc2* yang diperlukan untuk masuk ke mitosis, dikendalikan oleh *cdc25*. Adanya defosforilasi *cdc25* oleh *chk1* dapat menyebabkan kompleks *cycB-Cdk1* yang bertanggung jawab pada progresi fase G2/M tidak aktif, sehingga mengakibatkan G2/M *arrest*.

Apoptosis

Pemberian ekstrak etanol dan air beras hitam mampu menginduksi apoptosis sel HeLa (Gambar 5). Semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin tinggi pula apoptosis pada sel HeLa.



Gambar 5. Apoptosis pada sel HeLa akibat pemberian ekstrak etanol dan air beras hitam

Apoptosis terjadi melalui dua jalur, yakni secara ekstrinsik dan instrinsik. Jalur ekstrinsik terjadi ketika adanya ligan dari luar sel yang berikatan dengan reseptor kematian, sehingga mengaktifkan caspase untuk menginduksi apoptosis. Reseptor kematian terletak di permukaan sel adalah famili reseptor TNF (*Tumor Necrosis Factor*), meliputi TNF-R1, CD 95 (Fas), dan TNF-Related Apoptosis Inducing Ligan (TRAIL)-R1 dan R2. Jalur instrinsik terjadi dalam mitokondria yang mengalami stres, misalnya adanya ROS (*Reactive Oxygen Spesies*) yang berlebih. Mitokondria akan melepaskan sitokrom C dan mengaktifkan caspase untuk menginduksi apoptosis⁴⁸.

Apoptosis dimediasi oleh enzim proteolitik yang dikenal dengan caspase. Selain caspase, terdapat beberapa kelompok protein yang berperan dalam kerja apoptosis, diantaranya Bcl-2, IAP, DD, dan CARDs. Protein Bcl-2 dan 53 adalah berperan penting dalam regulasi apoptosis dalam kanker. Gen *p53* adalah gen

supresor tumor yang sering mengalami gangguan atau mutasi dalam sel kanker, sehingga program apoptosis dalam sel kanker terganggu⁴⁹.

KESIMPULAN

Beras hitam asli Indonesia mengandung flavonoid dan mempunyai aktivitas antioksidan yang tinggi sehingga mampu menekan pertumbuhan sel kanker HeLa, menghambat siklus sel dan menginduksi apoptosis sel kanker HeLa. Beras hitam Indonesia merupakan makanan pokok yang dapat digunakan sebagai bahan antikanker.

DAFTAR PUSTAKA

1. Jemal, A., Bray F., Center M.M., Ferlay J., Ward E., & Forman D. Global cancer statistics. *Journal for clinicians*, 2011, 61,2;69–90.
2. Mangan, Y. Solusi Sehat Mencegah & Mengatasi Kanker. Agro Media Pustaka. Jakarta. 2009.
3. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer. *Cell*, 2000,100;57–70.
4. Mondal S, Bandyopadhyay S, Ghosh MK, Mukhopadhyay S, Roy S, Mandal C. Natural Products: Promising resources for cancer drug discovery. *Anticancer Agents Med Chem*. 2012,12;49–75.
5. Elmore S. Apoptosis: A review of programmed cell death. *Toxicol Pathol*. 2007,35;495–516.
6. Berghe WM. Epigenetic impact of dietary polyphenols in cancer chemoprevention: Lifelong remodelling of our epigenomes. *Pharmacol Res*, 2012,65;565–76.
7. Kang DH. Oxidative stress, DNA damage and breast cancer. *AACN Clin Issues*, 2002,13;540–9.
8. Koskenkorva-Frank TS, Weiss G, Koppenol WH. 2013. The complex interplay of iron metabolism, reactive oxygen species, and reactive nitrogen species: Insights into the potential of various iron therapies to induce oxidative and nitrosative stress. *Free Radic Biol Med*, 2013,65;1174–94.
9. Fruehauf JP, Meyskens FL. Reactive oxygen species: A breath of life or death. *Clin Cancer Res*, 2007,13;789–94.
10. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*, 2007,39;44–84.
11. John JA, Shahidi F. Phenolic compounds and antioxidant activity of Brazil nuts. (*Bertholletia excelsa*). *J Funct Foods*, 2010,2;196–209.
12. Shao, Y., F. Xu, X. Sun and J. Bao. Identification and Quantification of Phenolic Acids and Anthocyanin as Antioxidants in Bran, Embryo and Endosperm of White, Red and Black Rice Kernels. *Food Chemistry Journal of Cereal Science*, 2014, 59 (8): 211

13. Hou, Z., P. Qin, Y. Zhang, S. Cui and G. Ren. Identification of Anthocyanins Isolated from Black Rice (*Oryza sativa* L.) and Their degradation Kinetics. *Food Research International*, 2013,50 (8);691-697.
14. Walter, M., E. Marchesan, P.F.S. Massoni and L.P. Silva. Antioxidant Properties of Rice Grains With light Brown, Red and Black Pericarp Colors and The Effect of Processing. *Food Research International*, 2013,50(6): 698-703.
15. Zhang, M.W., B. Guo, R. Zhang, J. Chi, Z. Wei, Z. Xu, Y. Zhang and X. Tang. Separation, Purification and Identification of Antioxidant Compositions in Black Rice. *Agricultural Science*, 2006,5(6);431-440.
16. Sompong, R., S. Siebenhandl-Ehn, G. Linsberger-Martin and E. Berghofer. Physicochemical and Antioxidative Properties of red and Black Rice Varieties From Thailand, China and Sri Lanka. *Food Chemistry*, 2011,124(9);132-140.
17. Chen, X.Q., N. Nagao, T. Itani and K. Irifune. Anti-oxidative Analysis, and Identification and Quantification of Anthocyanin Pigments in Different Coloured Rice. *Food Chemistry*, 2012,135(6);2783-2788.
18. Nontasan, S., A. Moongngarm and S. Deeseenthum. Application Of Functional Colorant Prepared from Black Rice Bran in Yogurt. *Asia-Pacific Chemical, Biological & Environmental Engineering Society*, 2012,2(6);62-67.
19. Zhang, X., Y. Shen, W. Prinyawiwatkul, J.M. King and Z. Xu. Comparison of The Activities of Hydrophilic Anthocyanins and Lipophilic Tocols in Black Rice Bran Against Lipid oxidation. *Food Chemistry*, 2013,141(7): 111-116.
20. Chen, X.Q., N. Nagao, T. Itani and K. Irifune. Anti-oxidative Analysis, and Identification and Quantification of Anthocyanin Pigments in Different Coloured Rice. *Food Chemistry*, 2012,135(6);2783-2788.
21. Xia, X., W. Ling, J. Ma, M. Xia, M. Hou and Q. Wang. An Anthocyanin-rich Extract from Black Rice Enhances Atherosclerotic Plaque Stabilization in Apolipoprotein E Deficient Mice. *The Journal of Nutrition*, 2006,136 (6): 2220-2225.
22. Wang, Q., M. Xia, C. Liu, H. Guo, Q. Hu, Y. Zhang, M. Hou, H. Zhu, J. Ma and W. Ling. Cyanidin-3-O- β -glucoside Inhibits iNOS and COX-2 Expression by Inducing Liver X Receptor Alpha Activation in THP-1 Macrophages. *Life Science*, 2008,83 (9); 176-184.
23. Zawistowski, J., A. Kopec and D.D. Kitts. Effect of a Black Rice Extract (*Oryza sativa* L.) on Cholesterol Levels and Plasma Lipid Parameters in Wistar Kyoto Rats. *Journal of Functional Foods*, 2009,1(7): 50-56
24. Yang, Y., M.C. Andrews, Y. Hu, D. Wang, Y. Qin and Y. Zhu. Anthocyanin Extract from Black Rice Significantly Ameliorates Platelet hyperactivity and Hypertriglyceridemia in Dyslipidemic Rats Induced by High Fat Diets. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2011,59 (5): 6759-6764.
25. Lu, Y. and L.Y. Foo. Polyphenolic Constituents of Black Rice Seed Residue. *Food Chemistry*, 2008,80 (5): 71-76.
26. Min, S., S. Ryu and D. Kim. Anti-inflammatory Effect of Black Rice, Cyanidin-3-O- β -glycoside, and Its Metabolites, Cyanidin and

- Protocatechuic Acid. *International Immunopharmacology*, 2010,10 (7): 959-966.
27. Nontasan, S., A. Moongngarm and S. Deeseenthum. 2012. Application Of Functional Colorant Prepared from Black Rice Bran in Yogurt. *Asia-Pacific Chemical, Biological & Environmental Engineering Society*, 2 (6): 62-67.
 28. Shinta, Serafinah, I. dan Endang, A. 2014. Morphological Variation of Six Pigmented Rice Local Varieties Grown in Organic Rice Field in Sengguruh Village, Kepanjen District, Malang Regency. *The Joynral of Tropical Life Science*, 4(2):149-150.
 29. Taie, H.A.A., El-Mergawi, R., Radwan, S. 2008. Isoflavonoids, flavonoids, phenolic acids profiles and antioxidant activity of soybean seeds as affected by organic and bioorganic fertilization. *American-Eurasian Journal of Agriculture and Environmental Science*. 4(2):207-213.
 30. Vichitphan, S., Vichitphan, K., dan Sirikhansaeng, P. 2007. Flavonoid content and antioxidant activity of krachai-dum (*Kaempferia parviflora*) wine. *KMITL Journal of Science and Technology*. 7(S2): 97-105.
 31. Panda, S.K. dan B. Ravindran. 2013. *In vitro* Culture of Human PBMCs. *Bio-protocol* 3(3):1-3.
 32. Fritz, J. 2007. 2016. Cell Proliferation Reagent WST-1 From Roche Applied Science. <http://www.biocompare.com/Product-Reviews/40932-Cell-Proliferation-Reagent-WST-1-From-Roche-Applied-Science/>. Diakses tanggal 15 Oktober 2016.
 33. Roche. 2011. Cell Proliferation Reagent WST-1. <http://www.molecularinfo.com/MTM/J/J2/J2-2/J2-2.pdf>. Diakses tanggal 15 Januari 2016.
 34. Rice-Evans, C. 2004. Flavonoids and isoflavones: absorption, metabolism and bioactivity. *Free Radic Biol Med*. 36:827–828.
 35. Manian,R., Anusuya,N., Siddhuraju,P. Dan Manian S. 2008. The antioxidant activity and free radical scavenging potential of two different solvent extracts of *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntz, *Ficus bengalensis* L. and *Ficus racemosa* L. *Food Chem* 107:1000–1007.
 36. Kahkonen,M.P., Hopia, A.I., Vuorela, H.J., Rauha,J.P., Pihlaja, K., Kujala, T.S., dan Heinonen, M. 1999. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *J Agr Food Chem* 48:1485–1490.
 37. Hakkim, F.L, Shankar,C.G, Girija S. 2007. Chemical composition and antioxidant property of holy basil (*Ocimum sanctum* L.) leaves, stems and inflorescence and their *in vitro* callus cultures. *J Agr Food Chem* 55:9109–9117.
 38. Rice-Evans, C.A., Miller, N.J, Paganga, G. 1996. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Rad Biol Med* 20:933–956.
 39. Molyneux, P. 2004. The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazil (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin J. Science Technology*, 26 (2) : 211-219.

40. Bhandari, M.R. dan Kawabata M: Organic acid, phenolic content and antioxidant activity of wild yam (*Dioscorea* spp.) tubers of Nepal. *Food Chem* 2004, 88:163–168.
41. Caro, G.P., S. Watanabe, A. Crozier, T. Fujimura and T. Yokota. 2013. Phytochemical Profile of a Japanese Black-purple Rice. *Food Chemistry*, 141 (7): 2821-2827.
42. Suffness, M, Pezzuto, J.M. 1990. Assays related to cancer drug discovery. In *Methods in Plant Biochemistry: Assays for Bioactivity*, Volume 6. Edited by Hostettmann K. London: Academic 71–133.
43. Malumbres, M, dan Barbacid, M. 2009. Cell cycle, CDKs and cancer: A changing paradigm. *Nat Rev Cancer* 9:153-66.
44. Lapenna, S. Dan Giordano, A. 2009. Cell cycle kinases as therapeutic targets for cancer. *Nat Rev Drug Discov* 8:547-66.
45. Millar, E.K., Dean, J.L., McNeil, C.M., O’Toole, S.A., Henshall, S.M., dan Tran, T. 2009. Cyclin D1b protein expression in breast cancer is independent of cyclin D1a and associated with poor disease outcome. *Oncogene* 28(15):1812-20.
46. Harper, J. W. & G. I. Shapiro. 1999. Anticancer Drug Targets: Cell Cycle and Checkpoint Control. *Journal of Clinical Investigation*.104(12).
47. Sarmoko & Larasati. 2012. Regulasi Siklus Sel. <http://ccrc.farmasi.ugm.ac.id>. Diakses tanggal 1 Juni 2016.
48. CCRC. 2014. Mekanisme dan Regulasi Apoptosis. <http://ccrc.farmasi.ugm.ac.id>. Diakses tanggal 15 Oktober 2016.
49. Lowe, S. W & A. W. Lin. 2000. Apoptosis in Cancer. *Carcinogenesis* 21(3):485-495

14 HC_Antikanker pdf

ORIGINALITY REPORT

12%

SIMILARITY INDEX

11%

INTERNET SOURCES

3%

PUBLICATIONS

2%

STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	bmccomplementalternmed.biomedcentral.com Internet Source	1%
2	journal.unika.ac.id Internet Source	1%
3	sosial.unmermadiun.ac.id Internet Source	1%
4	downloads.hindawi.com Internet Source	<1%
5	www.sciencegate.app Internet Source	<1%
6	publikasiilmiah.ums.ac.id Internet Source	<1%
7	www.trabalhosfeitos.com Internet Source	<1%
8	eprints.polbeng.ac.id Internet Source	<1%
9	Submitted to Politeknik Kesehatan Kemenkes Surabaya Student Paper	<1%

10	ejournal.kopertis10.or.id Internet Source	<1 %
11	pdfs.semanticscholar.org Internet Source	<1 %
12	repository.its.ac.id Internet Source	<1 %
13	tr.scribd.com Internet Source	<1 %
14	jurnal.uinsu.ac.id Internet Source	<1 %
15	ar.scribd.com Internet Source	<1 %
16	diposit.ub.edu Internet Source	<1 %
17	obatlukapayudara.com Internet Source	<1 %
18	pubag.nal.usda.gov Internet Source	<1 %
19	www.pom.go.id Internet Source	<1 %
20	yurichocoru.wordpress.com Internet Source	<1 %
21	earsiv.anadolu.edu.tr Internet Source	<1 %

22	ejournal2.undip.ac.id Internet Source	<1 %
23	ijpsr.com Internet Source	<1 %
24	jurnal.utb.ac.id Internet Source	<1 %
25	www.neliti.com Internet Source	<1 %
26	Afni Miranti, Lilik Lilik, Retno Winarni, Anesa Surya. "Representasi Pendidikan Karakter Berbasis Kearifan Lokal dalam Motif Batik Wahyu Ngawiyatan sebagai Muatan Pendidikan Senirupa di Sekolah Dasar", Jurnal Basicedu, 2021 Publication	<1 %
27	Eka Wilda Faida. "Analisa Pengaruh Faktor Usia, Status Pernikahan Dan Riwayat Keluarga Terhadap Pasien Kanker Payudara Di Rumah Sakit Onkologi Surabaya", Jurnal Manajemen Kesehatan Yayasan RS.Dr. Soetomo, 2016 Publication	<1 %
28	fk.upnvj.ac.id Internet Source	<1 %
29	hosniaadiranata.wordpress.com Internet Source	<1 %

30 Internet Source <1 %

31 journal.fmipaukit.ac.id
Internet Source <1 %

32 lib.unnes.ac.id
Internet Source <1 %

33 tede.ufam.edu.br
Internet Source <1 %

Exclude quotes Off

Exclude matches Off

Exclude bibliography On