Karakteristik Bekatul Padi (Oryza sativa) Awet Serta Aktivitas Antioksidan dan Penghambatan Proliferasi Sel Kanker Secara in Vitro Dari Minyak dan Fraksinya

Evy Damayanti
IPN 95540

Program Pascasarjana
Institut Pertanian Bogor
2002

ABSTRAK


Penelitian ini bertujuan (1) mengetahui karakteristik bekatul padi yang diawetkan, (2) mengetahui aktivitas antioksidan minyak bekatul awet dan fraksinya pada oksidasi lipoprotein denisitas rendah/sangat rendah (LDL/β-VLDL) dan limfosit manusia dalam keadaan stres oksidatif in vitro, dan (3) mengetahui aktivitas antiproliferasi minyak bekatul awet dan fraksinya terhadap alur sel kanker in vitro.

Tujuan 1 dicapai dengan mempelajari kondisi stabilisasi yaitu lama pemanasan menggunakan otoklaf dan pengeriningan yang optimum, pola komposisi komponen makro dan kandungan oryzanol yang maksimal pada berbagai derajat sosoh bekatul padi pada dua varietas padi unggul IR 64 dan Cilamaya Muncul. Hasil penelitian menunjukkan varietas dan interaksi antara lama pemanasan dan varietas tidak berpengaruh terhadap peningkatan % asam lemak bebas bekatul. Pola peningkatan asam lemak bebas menurun secara nyata dengan bertambahnya lama pemanasan hingga 3 menit, kemudian mendatar pada 3.5 – 5 menit (α = 0.05). Kadar tokoferol pada lama pemanasan 0.5 – 3 menit (21.6,28 mg/100 g minyak) masih sama dengan pada 0 menit (294, 71 mg/100 g minyak) lalu menurun secara nyata pada 3.5-5 menit (α = 0.05). Kondisi stabilisasi optimal bekatul adalah pemanasan pada 121°C selama 3 menit dan dikeringkan pada oven 105°C selama 1 jam. Kandungan oryzanol yang terbanyak terdapat pada derajat sosoh 10 dan 13 % dengan kadar yang sama pada kedua varietas padi yaitu berkisar 12.50 – 17.92 mg/g minyak.

Untuk mempelajari aktivitas antioksidan minyak bekatul dan fraksinya pada LDL/β-VLDL manusia, plasma darah manusia disuplementasi dengan minyak bekatul IR-64, fraksi tak tersabuk, oryzanol IR-64, oryzanol IR-64 3x, atau oryzanol standard dengan konsentrasi berturut-turut : 308,3; 22,2; 5,2; 10,4; 10,4 μg/ml plasma, atau tanpa suplementasi sebagai kontrol. Kemudian LDL/β-VLDL disosialisasi menggunakan metode ultracentrifus, diencerkan menjadi 200 μg protein/ml dan dioksidasi oleh CuSO₄ 5 M. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi malonaldehid LDL dan β-VLDL, sebagai parameter oksidasi, menurun (α = 0.05) berturut-turut sebesar 15-41 % dan 39-56 % dibandingkan kontrol.
Pada sistem limfosit, lama inkubasi, konsentrasi H₂O₂, waktu suplementasi ekstrak uji pada kultur limfosit ditentukan sebelum uji sifat antioksidan minyak bekatul dan fraksinya dilakukan. Minyak bekatul IR-64, fraksi tak tersabunkan IR-64 dan oryzanol standar terdiri atas 5 tingkat konsentrasi akhir yang dihitung berdasarkan pada konsentrasi minuman bekatul model, yaitu minyak: 133,2 - 2.132,0 μg/ml; fraksi tak tersabunkan 9,6 – 153,6 μg/ml; oryzanol 2,4 – 37,7 μg/ml ditambahkan pada media kultur limfosit dan sel kanker. Jumlah sel yang hidup yang diukur dengan metode MTT pada kultur limfosit tidak dipengaruhi oleh jenis dan konsentrasi minyak dan fraksinya. Penambahan H₂O₂ 3 mM ke dalam kultur menurunkan jumlah sel hidup secara nyata dibandingkan tanpa penambahan H₂O₂.


Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa untuk aspek komersial, minyak bekatul lebih berpotensi daripada oryzanol baik sebagai antioksidan dan sebagai aktivitas antiproliferasi alur sel kanker karena rendemennya yang jauh lebih besar, seperti yang ditunjukkan oleh nilai KR.

Kata kunci: oryzanol, minyak bekatul padi awet, LDL/β-VLDL-oxidized, limfosit, alur sel kanker.
EVY DAMAYANTHI. Characteristics of Stabilized Rice (Oryza sativa) Bran and In Vitro Antioxidant and Cancer Cell Line Antiproliferation Activities of Rice Bran Oil and Its Fractions. Under the guidance of DEWDY MUCHTADI as the chairman, FRANSISKA RUNGKAT ZAKARIA, HIDAYAT SYARIF, C. HANNY WIJAYA, DJOKO S/JID DAMAR DJATI as advisory committee members.

ABSTRACT

Rice bran, a by product of rice milling, is derived from the outer layer of rice caryopsis. Although rice bran is abundant in Indonesia, its utilization for human consumption is still limited and it is used merely as feed. Rice bran is a rich source of vitamin B, E, essential fatty acids, dietary fiber, good quality protein and oryzanol. Rice bran, unsaponifiable matter and oryzanol may decrease cholesterol level in human or animal blood. Oryzanol was also reported to have antioxidant and anticancer activities.

The objectives of this research were (1) to study the characteristics of stabilized rice bran, (2) to study the antioxidant activities of rice bran oil and its fractions on oxidized human low density lipoprotein (LDL/β-VLDL) and lymphocyte under oxidative stress condition, (3) to investigate the antiproliferative activity of rice bran oil and its fractions on cancer cell lines.

Two superior rice cultivars (IR-64 and Cilamaya Muncul) were used to study the optimal autoclave process for the stabilization of rice bran and the distribution of chemical compounds in rice brans at various degrees of milling. The results showed that rice cultivars and the interaction of rice cultivars and heating time did not influence the increased of free fatty acid. The free fatty acid increment was reduced significantly with increasing heating time until 3 min, then levelled off at 3.5-5 min (α= 0.05). The tocopherol content at 0.5 - 3 min heating time (216.28 mg/100 g oil) was not significantly different with 0 min (264.71 mg/100 g oil) but then decreased significantly after heating for 3.5-5 min (α = 0.05). The optimal stabilization condition was heating the rice bran at 121 °C for 3 min then drying at 105 °C for 1 h. The highest oryzanol content of practically both cultivars was obtained at 10-13 % degree of milling, which ranged between 12.50 – 17.92 mg/g oil.

To study the antioxidant activity on human LDL/β-VLDL, human plasma was supplemented with rice bran oil (RBO), unsaponifiable matter, oryzanol IR-64, oryzanol IR-64 3x or oryzanol standard at 308.3; 22.2; 5.2; 10.4; 10.4 µg/ml plasma respectively or without supplementation as control. The concentrations tested were calculated based on the fraction content in a bran beverage model. The LDL/β-VLDL was isolated using ultracentrifugation method, diluted to 200 µg protein/ml, then oxidized with CuSO4 5 µM. The results showed that malondialdehyde concentrations in the oxidized LDL and β-VLDL, as the oxidation parameter, were significantly decreased (α= 0.05) to 15 – 41% and 39 – 56 % compared to the control.

In the lymphocyte system, time of incubation, H2O2 concentration, the time of sample supplemented into human lymphocyte culture were determined before the antioxidant activity of RBO and its fraction in lymphocyte was carried out. RBO IR-64 and unsaponifiable matter from IR-64, and oryzanol standard with 5 levels of concentrations at the range for RBO 133.2 - 2,132.0 µg/ml, unsaponifiable matter 9.6 – 153.6 µg/ml, oryzanol standard 2.4 – 37.7 µg/ml,
were added in the lymphocyte and cancer cell lines for the antiproliferation experiments. The concentration used in the tests were calculated based on fraction contents in a bran beverage model. The number of living lymphocyte cells in the culture was not influenced by the kind and concentration of RBO and its fractions. The addition of hydrogen peroxide (H₂O₂) 3 mM into the culture significantly lowered the quantity of living cells compared to the culture without H₂O₂.

Antiproliferative activity of RBO and its fractions measured by the number of living cancer cell lines in the culture was influenced by the kind and concentration of RBO and its fractions. Increasing sample concentration decreased the quantity of living cells which means that the percentage of inhibition was increased. The sample having the highest antiproliferative activity was RBO followed by unsaponifiable matter and oryzanol.

Relative capacity (RC), which calculated the yield value, showed the highest RC value of RBO (3.88) to oryzanol, followed by the value of unsaponifiable matter (2) in protecting LDL/β-VLDL. For the antiproliferative activity, the RC of RBO to oryzanol was higher than the unsaponifiable matter for KR-4, K-562, and melanoma cancer cell lines. The test samples did not show antiproliferative activity on normal human lymphocyte and L-929 cell line.

This research has demonstrated that RBO from stabilized rice bran has antioxidant activity on human LDL/β-VLDL, but not noticeable on human lymphocyte. For commercial aspect, RBO was more potential than oryzanol both as antioxidant and as antiproliferative on cancer cell line activities, due to its higher yield.

**Keywords**: oryzanol, stabilized rice bran oil, VLDL/LDL-oxidized, lymphocyte and cancer cell line
SURAT PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa disertasi yang berjudul:

KARAKTERISTIK BEKATUL PADI (Oryza sativa) AWET SERTA AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN PENGHAMBATAN PROLIFERASI SEL KANKER SECARA IN VITRO DARI MINYAK DAN FRAKSIINYA

adalah benar merupakan hasil karya saya sendiri dan belum pernah dipublikasikan. Semua sumber data dan informasi yang digunakan telah dinyatakan secara jelas dan dapat diperiksa kebenarannya.

Bogor, Agustus 2002

[Signature]

Fvy Damayanthi
NRP. 95540/IPN
KARAKTERISTIK BEKATUL PADI (*Oryza sativa*)
AWET SERTA AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN
PENGHAMBATAN PROLIFERASI SEL
KANKER SECARA *IN VITRO* DARI
MINYAK DAN FRAKSIANYA

EVY DAMAYANTHI
IPN 95540

Disertasi
Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Doktor pada
Program Studi Ilmu Pangan

PROGRAM PASCASARJANA
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
2002
Judul Disertasi : Karakteristik Bekatul Padi (Oryza sativa) Awet serta Aktifitas Antioksidan dan Penghambatan Proliferasi Sel Kanker secara In Vitro dari Minyak dan Fraksinya

Nama : Evy Damayanti
NRP : 95540
Program Studi : Ilmu Pangan

Menyetujui,
1. Komisi Pembimbing

[Signature]

Prof. Dr. Ir. H. Deddy Muchtadi, MS.
Ketua

[Signature]

Dr. Ir. Fransiska R. Zakaria, MSc.
Anggota

[Signature]

Prof. Dr. Ir. H. Hidayat Syarief, MS.
Anggota

[Signature]

Prof. Dr. Ir. C. Hanny Wijaya, M.Agr.
Anggota

[Signature]

Dr. Ir. H. Djoko Said Damardjati, MS
Anggota

Mengambil
2. Ketua Program Studi Ilmu Pangan

[Signature]

Prof. Dr. Ir. Betty Sri Laksmi Jenie, MS.
Eko Dr. Ir. Safrida Manuwoto, MSc.

PASCASARJANA

Tanggal Lulus : 3 Juni 2002
RIWAYAT HIDUP


Karya ilmiah dengan judul "Rice Bran Stabilization and γ-Oryzanol Content of Two Local Paddy varieties "IR 64" and "Cilamaya Muncul" telah disajikan di depan Tim Seleksi PATPI-Post Graduate Student Award di Bogor pada tanggal 31 Mei 2000 dan meraih Juara ke II. Karya ilmiah ini kemudian dimuat di Jurnal Teknologi dan Industri Pangan tahun 2001, volume XII, nomor 1, halaman 72-76. Karya ilmiah ini merupakan bagian dari program S3 penulis.
PRAKATA

Puji dan syukur kami panjatkan ke hadirat Allah SWT atas segala limpahan karunia-Nya sehingga karya ilmiah ini berhasil diselesaikan. Disertasi ini mengkaji mengenai Karakteristik Bekatul Padi (Oryza sativa) Awet serta Aktivitas Antioksidan dan Penghambatan Proliferasi Sel Kanker secara In Vitro dari Minyak dan Fraksinya.

Bab pertama dari disertasi ini merupakan pengembangan dari naskah artikel yang dimuat di jurnal Teknologi dan Industri Pangan (Vol. XII, No.1 Th 2001, 72-76) dengan judul Rice Bran Stabilization and γ-Oryzanol Content of Two Local Paddy varieties "IR 64" and "Cilamaya Muncul".

Penulis menyampaikan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Ir. H. Deddy Muchtadi, MS selaku Ketua Komisi Pembimbing, Bapak Prof. Dr. Ir. H. Hidayat Syarief, MS, Ibu Dr. Ir. Fransiska Rungkat Zakaria, MSc, Ibu Prof. Dr. Ir. C. Hanny Wijaya, M.Agr dan Bapak Dr. Ir. H. Djoko Said Damardjati, MS sebagai anggota komisi pembimbing atas segala arahan, petunjuk dan bimbingannya. Kepada Ibu Dr. Ir. Fransiska Rungkat Zakaria terimakasih pula atas bantuan bahan penelitiannya.

2. Bapak drh Bambang Pontjo P, MS. PhD sebagai dosen penguji pada ujian tertutup dan terbuka atas segala arahan dan petunjuknya dan sekaligus memberikan izin dan membimbing kami untuk magang di laboratorium Kultur Sel di FKH-IPB.

3. Bapak Dr. Ir. Y. Marsono MSc. sebagai dosen penguji terbuka atas segala arahan dan petunjuknya dan sekaligus bantuan bahan standar oryzanolfnya.