

PENGHAMBATAN EKSTRAK SORGUM (*Sorghum Bicolor*) TERHADAP PROLIFERASI SEL KANKER LIMFOMA

Yuszda K. Salimi¹⁾, Fransiska R. Zakaria²⁾

¹⁾ Jurusan Kimia Fakultas P-MIPA, Universitas Negeri Gorontalo

²⁾ Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fateta, IPB

ABSTRACT: Cancer is a disease caused by irregular and uncontrolled cell growth. Sorghum (*Sorghum bicolor*) contains antioxidant substances and fiber, supposed to have anticancer property. The aim of this research is to examine the inhibitory effect of whole sorghum (S0) and half polished (S50) sorghum grain extract on proliferating lymphoma cancer cell Raji. Extraction of sorghum grain used extraction method based on solvent polarity of hexane, ethyl acetate and ethanol. Cytotoxic testing lethal concentration 50 (LC₅₀) was done by BSLT method. Lymphocyte proliferative activity and inhibition of cancer cells were conducted by MTT method. The extract were also able to increase cell proliferation of lymphocytes (2-71%). Sorghum extract could inhibit the growth of Raji cells (80.08%). The results showed that sorghum extract could inhibit cancer cell proliferation.

Keywords: cancer, hexane, ethyl acetate, ethanol, Raji lymphoma, lymphocyte.

ABSTRAK: Kanker adalah suatu penyakit yang disebabkan oleh adanya pertumbuhan sel tidak normal dan tidak terkendali. Sorgum mengandung senyawa antioksidan dan serat sehingga berpotensi sebagai antikanker. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas penghambatan ekstrak biji sorgum utuh (S0) dan sorgum sosoh 50% (S50) terhadap pertumbuhan sel kanker limfoma Raji. Ekstraksi biji sorgum dengan pelarut heksana, etil asetat, dan etanol. Pengujian sitotoksik *Lethal Concentration 50* (LC₅₀) dengan metode BSLT. Pengujian aktivitas proliferasi limfosit dan penghambatan sel kanker dengan metode MTT. Ekstrak sorgum mampu meningkatkan proliferasi sel limfosit (2- 71%). Ekstrak sorgum mampu menghambat pertumbuhan sel kanker kolon Raji hingga 80,08%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak sorgum mampu menghambat proliferasi sel kanker.

Kata kunci : Kanker, heksana, etil asetat, etanol, Raji, limfosit

PENDAHULUAN

Prevalensi penyakit kanker di Indonesia diperkirakan akan meningkat terus seiring dengan meningkatnya perubahan pola konsumsi pangan. Pola makan tradisional yang kaya akan karbohidrat kompleks dan serat pangan mulai ditinggalkan. Sebaliknya pola makan modern yang siap saji mulai digemari. Makanan dengan kandungan lemak tinggi, daging dan produk-produk daging, garam serta makanan olahan yang mengandung lemak dan gula cenderung dikonsumsi lebih tinggi. Demikian juga kecenderungan meningkatnya konsumsi pangan yang mengandung senyawa mutagen akibat pencemaran kimia dan bahan tambahan pangan.

Salah satu bahan pangan yang potensial dikembangkan di Indonesia adalah sorgum. Sebagai salah satu sereal yang mengandung karbohidrat kompleks dan sumber serat pangan, sorgum sangat potensial dikembangkan sebagai bahan pangan fungsional. Sorgum mengandung komponen fitokimia seperti tannin, asam fenolik, antosianin, fitosterol, dan polikosanol, yang secara signifikan mempengaruhi kesehatan (Awika & Rooney 2004). Beberapa penelitian melaporkan bahwa komponen bioaktif yang terdapat dalam sorgum berfungsi sebagai antioksidan, antimikroba dan dapat menurunkan kadar kolesterol darah. Ekstrak heksan dari tepung biji sorgum dan jewawut yang diberikan pada tikus percobaan dapat menghambat aktivitas enzim HMG-CoA reduktase pada hati tikus dan dapat menurunkan resiko penyakit kardiovaskular (Cho *et al.* 2000). Peningkatan aktivitas antioksidan DPPH dan antimikroba ekstrak metanol dari tepung biji sorgum dilaporkan oleh Kill *et al.* (2009). Tepung biji sorgum

dapat meningkatkan aktivitas proliferasi sel limfosit limpa pada tikus *Sprague Dawley* yang diberi pakan 50% dan 100% tepung biji sorgum. Potensi sorgum sebagai antioksidan melalui peningkatan enzim superoksidadismutase (SOD) sebesar 98% pada tikus jantan yang diberi 50% tepung sorgum dan peningkatan 91% pada tikus yang diberi 100% sorgum (Puspawati 2009). Adanya korelasi aktivitas antioksidan dan antiproliferasi sel kanker esophagus OE33 dan kolon HT-29 dilaporkan oleh Awika *et al.* (2009). Pengujian secara *in vitro* menunjukkan bahwa 3-deoxyanthocyanidin yang diisolasi dari sorgum dapat menghambat proliferasi sel kanker leukemia sebesar 90% dan sel kanker hepatoma 50% (Shih *et al.* 2007). Sejalan dengan hal tersebut, maka penelitian ini bertujuan untuk mengekstraksi tepung biji sorgum dengan pelarut heksan, etil asetat, dan etanol, menguji sitotoksitas ekstrak dan penghambatannya terhadap sel kanker Raji.

METODE

Tempat

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biokimia dan Kimia Pangan Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan Fateta dan Laboratorium Kultur Jaringan FKH IPB.

Bahan Penelitian

Sorgum varietas kawali diperoleh dari petani di daerah gunung Kidul. Sel kanker Raji dari Stem Cell Cancer Institute Jakarta. Bahan lain diantaranya heksana, etil asetat, dan etanol untuk ekstraksi, bahan untuk keperluan kultur seperti Dulbescco's modified eagle's medium dan 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT).

Metode Penelitian

Tahapan penelitian ini terdiri dari: 1) Analisis komponen kimia, 2) Produksi ekstrak tepung biji sorgum, 3) Pengujian sitotoksik *Lethal Concentration 50* (LC₅₀), 4) Pengujian aktivitas proliferasi limfosit, 5) Pengujian aktivitas penghambatan sel kanker

Produksi ekstrak biji sorgum

Ekstraksi bertingkat tepung sorgum dilakukan dengan metode maserasi berdasarkan tingkat kepolaran pelarut yaitu heksana (non polar), etil asetat (semi polar) dan etanol (polar). Tepung biji sorgum dimaserasi pada suhu ruang selama 24 jam dengan heksana. Perbandingan tepung biji sorgum adalah 1 : 4 (b/v). Filtrat diambil sebagai ekstrak heksana dan endapan dimaserasi dengan etil asetat selama 24 jam. Filtrat diambil sebagai ekstrak etil asetat, sedangkan endapan dimaserasi lagi dengan etanol selama 24 jam dan filtratnya diambil sebagai ekstrak etanol. Pelarut diuapkan dengan rotavapor suhu 40°C, sisa pelarut diuapkan dengan gas nitrogen. Ekstrak yang diperoleh digunakan sebagai sampel untuk analisis fitokimia dan pengujian sitotoksik dan penghambatan pada sel kanker.

Pengujian Sitotoksik *Lethal Concentration 50* (LC₅₀) dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Uji BSLT merupakan pengujian toksisitas pada larva *Artemia salina* L. Uji ini dilakukan terhadap ekstrak hasil maserasi dengan pelarut heksana, etil asetat, dan etanol dengan konsentrasi 0, 10, 100, dan 1000 (µg/ml). Data selanjutnya diolah dengan analisis probit, yaitu suatu metode regresi menggunakan program computer SAS 604 untuk mencari data LC₅₀.

Pengujian ekstrak tepung sorgum terhadap sel limfosit

Pengujian pada sel limfosit adalah untuk melihat kemampuan ekstrak dalam meningkatkan sistem imun. Suspensi sel limfosit (2×10^6 sel/ml) dalam medium lengkap (RPMI ditambah fetal bovine serum 10%, penisilin 100U/ml dan streptomisin 100ug/ml) diinkubasi selama 72 jam dengan atau tanpa perlakuan ekstrak sorgum. Konsentrasi ekstrak adalah konsentrasi $\frac{1}{2}$ kali LC_{50} , konsentrasi LC_{50} , konsentrasi $1\frac{1}{2}$ kali LC_{50} , dan konsentrasi 2 kali LC_{50} . Viabilitas sel dihitung dengan bantuan pewarna tripan blue. Pengujian aktivitas proliferasi sel limfosit dengan metode 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT).

Pengujian ekstrak tepung sorgum terhadap sel kanker Raji

Pengujian pada sel kanker adalah untuk melihat aktivitas penghambatan ekstrak pada sel kanker. Sel kanker ($1-2 \times 10^6$) di medium lengkap (DMEM ditambah fetal bovine serum 10%, penisilin 100U/ml dan streptomisin 100ug/ml) dikulturkan selama 24 jam. Setelah kepadatan sel mencapai sekitar 50%, kultur diinkubasi lebih lanjut selama 48 jam dengan atau tanpa perlakuan ekstrak dengan konsentrasi $\frac{1}{2}$ kali, 1 kali, $1\frac{1}{2}$ kali dan 2 kali dengan LC_{50} . Pengujian aktivitas penghambatan sel kanker diukur dengan elisa reader pada $\lambda 595\text{nm}$ dengan metode 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Produksi ekstrak sorgum

Tepung sorgum diekstraksi secara bertahap dengan beberapa jenis pelarut dengan tingkat polaritas berbeda. Pelarut heksana digunakan untuk mengekstrak komponen aktif yang larut dalam pelarut non polar. Etil asetat untuk mengekstrak komponen aktif yang larut dalam pelarut semi polar dan etanol untuk mengekstrak komponen aktif yang larut dalam pelarut polar. Sifat fisik dari masing-masing ekstrak terlihat pada tabel 1. Data pada tabel 1 menunjukkan bahwa rendemen komponen non polar dan semi polar lebih rendah dari komponen polar. Ekstrak etanol menunjukkan rendemen ekstrak tertinggi pada sorgum non sosoh. Kemampuan etanol dalam mengekstrak jaringan tanaman disebabkan pelarut ini secara efektif dapat melarutkan senyawa polar, seperti gula, asam amino, dan glikosida (Houghton dan Raman, 1998).

Tabel 1. Sifat fisik dan rendemen ekstrak biji sorgum

Jenis Ekstrak	Fisik Ekstrak	Rendemen ekstrak(%)		
		S0	S50	S100
Ekstrak Heksana	Kuning kecoklatan, kental(<i>oily</i>)	0.71	0.67	0.26
Ekstrak Etilasetat	Kuning jingga, kental	0.42	0.36	0.11
Ekstrak Etanol	Jingga kecoklatan, kental	4.55	3.61	1.47

Pengujian sitotoksik dengan metode BSLT

Pengujian sitotoksik dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dilakukan dengan mengamati tingkat mortalitas *Artemia salina* Leach yang disebabkan oleh ekstrak sorgum. Senyawa yang aktif akan menghasilkan tingkat mortalitas yang tinggi. Uji sitotoksik dapat memberikan informasi konsentrasi komponen yang terkandung dalam ekstrak yang masih memungkinkan sel mampu bertahan hidup. Akhir dari uji sitotoksik pada organ target memberikan informasi langsung tentang perubahan yang terjadi pada fungsi sel secara spesifik (Doyle dan Griffiths, 2000).

Tabel 2. Hasil Pengujian BSLT pada ketiga jenis ekstrak

Jenis Ekstrak	Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Persentase mortalitas (%)		LC50 ($\mu\text{g/ml}$)	
		S0	S50	S0	S50
Ekstrak Heksana	10	35.8	43.3		
	100	41.2	45.7	151	198
	1000	100	95.1		
	5000	100	100		
Ekstrak etilasetat	10	34.1	15.3		
	100	32.8	31.7	1224	1352
	1000	42.2	25.5		
	5000	100	100		
Ekstrak etanol	10	17.4	12.9		
	100	21.2	10.6	2679	2595
	1000	39.6	43.8		
	5000	100	55.1		

Data yang ditunjukkan pada tabel 2 merupakan data mortalitas yang dianalisis dengan Probit Analysis Method untuk mendapatkan nilai LC50 (*lethal concentration 50%*). Data menunjukkan LC50 ekstrak heksan H0 \pm 151 $\mu\text{g/ml}$ dan H5 \pm 198 $\mu\text{g/ml}$. Ini menunjukkan bahwa ekstrak heksan bersifat toksik karena LC50 < 1000 $\mu\text{g/ml}$.

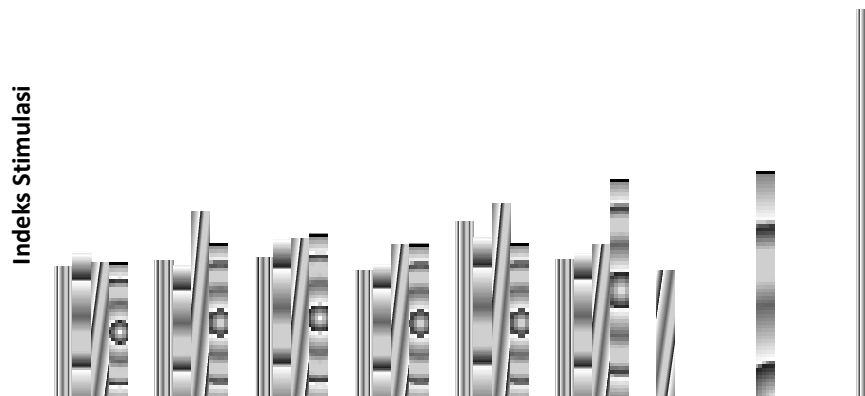
Aktivitas ekstrak sorgum terhadap proliferasi limfosit

Konsentrasi ketiga ekstrak sorgum yang akan diuji aktivitasnya terhadap proliferasi sel limfosit dan sel kanker berdasarkan hasil yang didapat dari pengujian BSLT. Konsentrasi berdasarkan LC₅₀ dengan pembulatan angka yang paling dekat. Untuk konsentrasi kode simbol awal H adalah ekstrak heksana, A adalah ekstrak etil asetat dan E adalah ekstrak etanol. Kode simbol kedua 0 adalah sorgum non sosoh dan 5 adalah sorgum DS 50%. Kode simbol akhir 1 adalah konsentrasi ½ kali LC₅₀, kode 2 adalah konsentrasi LC₅₀, kode 3 adalah konsentrasi 1½ kali LC₅₀, dan kode 4 adalah konsentrasi 2 kali LC₅₀.

Salah satu parameter untuk melihat aktivitas imunomodulator suatu komponen adalah kemampuan menstimulasi proliferasi sel limfosit. Proses proliferasi pada sel limfosit adalah proses pendewasaan dan perbanyakan sel melalui pembelahan sel atau mitosis. Aktivitas sel limfosit T dan B yang berproliferasi ini dapat diukur melalui nilai indeks stimulasi (IS). Mitogen untuk memicu terjadinya proliferasi non spesifik dari sel limfosit, dimana mitogen lipopolisakarida (LPS) dan Conavalin A (Con A) digunakan sebagai kontrol untuk stimulasi sel B dan sel T.

Data pada gambar 1 menunjukkan bahwa ekstrak sorgum mampu menstimulasi sel limfosit. Peningkatan indeks stimulasi (IS) ketiga ekstrak sorgum sebesar 3-71%. Ekstrak etanol E54 mempunyai nilai indeks stimulasi (IS) 1,71 (peningkatan 71%) hampir setara dengan mitogen LPS yang mempunyai IS 1,78 (peningkatan 78%). Semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang ditambahkan ke dalam kultur, berarti semakin tinggi kandungan komponen aktifnya. Hal tersebut dapat menyebabkan peningkatan proliferasi sel limfosit. Ekstrak sorgum diduga menstimulasi fase mitosis sel limfosit. Terjadinya peningkatan kemampuan limfosit untuk

berproliferasi atau membentuk klon menunjukkan bahwa sel limfosit mempunyai kemampuan merespon imunologik atau tingkat kekebalan.



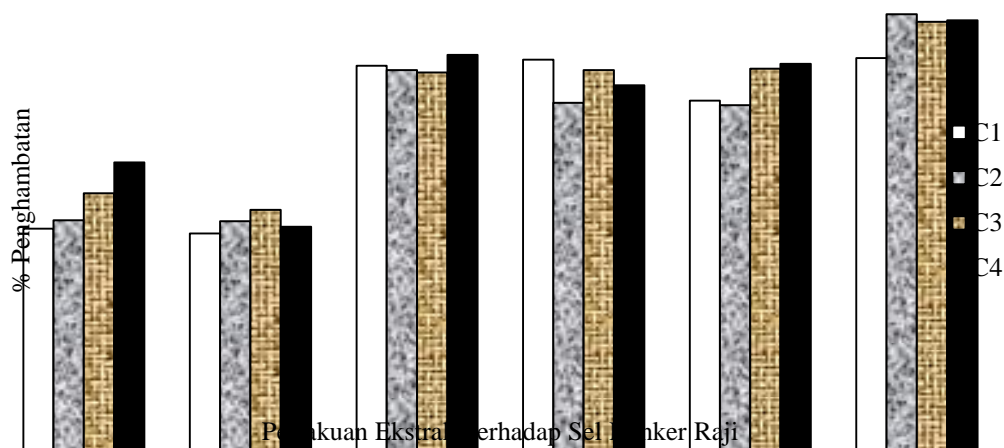
Gambar 1. Indeks Stimulasi proliferasi sel limfosit

Pengujian aktivitas penghambatan pada alur sel kanker Raji

Sel Raji adalah sel yang berasal dari kultur sel *lymphoblastoid* yang diturunkan dari *lymphoma Burkitt*. *Burkitt* merupakan sejenis kanker yang terdapat pada sistem limpa khususnya pada limfosit B. Sel ini termasuk sel limfoblast yang secara morfologi berbentuk bulat dan tumbuh dalam suspensi tanpa melekat di permukaan. Aktivitas penghambatan ekstrak sorgum non sosoh dan sorgum DS 50% pada sel kanker Raji tidak memperlihatkan perbedaan secara signifikan.

Ketiga ekstrak secara nyata menghambat proliferasi sel kanker Raji yang berasal dari kultur *cell line lymphoblastoid* yang diturunkan dari *lymphoma Burkitt*. Penghambatan sel kanker Raji (69,8%) ditemukan pada ekstrak etanol sorgum (2600 μ g/ml). Ekstrak kasar dari beberapa varietas sorgum dilaporkan menghambat proliferasi sel kanker dengan konsentrasi IC_{50} 59 – 389 μ g/ml pada sel kanker kolon HT-29 dan 98 – 604 μ g/ml pada sel kanker esophagus (Awika *et al.* 2009).

Penghambatan pada sel kanker diduga karena adanya flavonoid dan antosianin yang terdapat pada ekstrak sorgum menyebabkan siklus sel *arrest* (terhenti) sehingga sel tidak dapat berproliferasi. Mekanisme penghambatan sel kanker lambung AGS oleh komponen antosianin (malvidin, sianidin, delphinidin, pelargonidin, peonidin) dilaporkan oleh Shih *et al.* (2005). Malvidin (0 - 200 μ M) menunjukkan aktivitas antiproliferasi sel dan menyebabkan siklus sel *arrest* (terhenti) pada fase G0/G1. Akumulasi malvidin pada fase G1 sel AGS 20% (100 μ M) dan 30% (200 μ M). Sel kanker dalam siklus proliferasi merupakan sel-sel yang sensitif terhadap efek senyawa anti-tumor dan umumnya senyawa sitotoksik bekerja dengan jalan merusak enzim atau substrat yang dipengaruhi oleh sistem enzim. Sebagian besar efek pada enzim atau substrat berhubungan dengan sintesis DNA. Dengan demikian senyawa bioaktif yang terdapat dalam sorgum diduga menghambat sel yang sedang membelah atau sintesis DNA.



Gambar 2. Penghambatan ekstrak sorgum terhadap penghambatan sel kanker Raji (H0 = ekstrak heksana, A0 = ekstrak etil asetat, E0 = ekstrak etanol, C1 = konsentrasi $\frac{1}{2}$ x LC_{50} , C2 = konsentrasi LC_{50} , C3 = konsentrasi $1\frac{1}{2}$ x LC_{50} , C4 = konsentrasi 2 x LC_{50}).

Pengujian secara *in vitro* yang dilaporkan oleh Shih *et al.* (2007) menunjukkan bahwa 3-deoksiantosianidin yang diisolasi dari sorgum dapat menghambat proliferasi sel kanker leukemia HL60 sebesar 90% dan sel kanker hepatoma HepG2 50%. Sitotoksik 3-deoksiantosianidin terhadap sel kanker lebih tinggi dari antosianin analog 3-hidroksilasi. Komponen flavonoid 3-deoksiantosianidin merupakan senyawa yang unik dan jarang terdapat pada tanaman lain. Komponen penyusun 3-deoksiantosianidin adalah luteolinidin (BM 271) dan apigeninidin (BM 255) diduga sebagai komponen yang menyebabkan sitotoksik terhadap sel kanker manusia dibandingkan sianidin dan pelargonidin. Potensi 3-deoksiantosianidin sebagai pewarna alami dilaporkan lebih stabil dan tahan terhadap cahaya, panas, dan perubahan pH dibandingkan antosianin yang umumnya terdapat pada buah dan sayur (Kuzuhara *et al.* 2008).

Komponen bioaktif seperti asam fenolat berperan dalam mencegah kanker dan antigenotoksik karena langsung berinteraksi dengan reseptor aril hidrokarbon (Kampa *et al.* 2003). Senyawa bioaktif yang terdapat pada sorgum diduga berinterkalasi dengan DNA sehingga secara langsung akan mempengaruhi transkripsi dan replikasi. Polifenol dilaporkan mampu membentuk kompleks tripartit dengan topoisomerase II dan DNA. Topoisomerase II adalah suatu enzim tergantung ATP yang bekerja mengikat DNA dan menyebabkan double-strand break pada ujung 3'fosfat sehingga memungkinkan penukaran strand dan pelurusan DNA superkoil. Pelurusan strand ini diikuti dengan penyambungan strand DNA oleh topoisomerase II. Topoisomerase ini sangat penting fungsinya dalam replikasi dan perbaikan DNA. Pembentukan kompleks tripartit tersebut akan menghambat penyambungan kembali strand DNA, menyebabkan penghambatan daur sel terhenti di fase G1 dan G2 serta memacu terjadinya apoptosis. Adanya gangguan pada sistem perbaikan DNA *double strand* akan memicu kematian sel secara apoptosis (Bandeale *et al.* 2008).

Adanya korelasi aktivitas antioksidan dan antiproliferasi sel kanker merupakan salah satu mekanisme yang diduga menghambat kanker. Hal ini dilaporkan oleh Awika *et al.* (2009) yang menyatakan bahwa ekstrak sorgum yang mengandung tanin menghambat proliferasi sel kanker esophagus OE33 dan kolon HT-29 (IC_{50} 38 - 105 μ g/ml).

Mekanisme lain yang diduga adalah ekstrak sorgum mampu menginduksi enzim fase II dan apoptosis. Yang *et al.* (2009) melaporkan bahwa 3-deoksiantosianidin yang terdapat dalam

sorgum merah, hitam dan putih mampu menghambat proliferasi sel kanker kolon HT-29 lebih tinggi dari ekstrak pigmen cabe merah. Apigeninidin dan derivat metoksilatnya pada ekstrak sorgum hitam mampu menginduksi enzim fase II *NAD(P)H:quinone oxidoreductase* (NQO) pada sel hepatoma Hepa1c1c7 tiga kali lebih tinggi selama perlakuan 24 jam.

Ekstrak sorgum menghambat sel kanker melalui mekanisme antiproliferasi dan apoptosis dilaporkan oleh Mohamed *et al.* (2009). Apoptosis dicirikan dengan morfologi sel mengerut, terjadinya kondensasi dan fragmentasi inti sel. Kematian sel disebabkan karena perubahan metabolik yang terganggu diikuti dengan pecahnya sel menjadi benda apoptotik. Proantosianin dilaporkan menginduksi apoptosis pada sel lestari SNU-C4 melalui jalur mitokondria dengan meningkatkan ekspresi gen proapoptosis (Bax) dan menurunkan ekspresi gen antiapoptosis (Bcl-2). Weigun *et al.* (2004) melaporkan bahwa epigeninidin menginduksi apoptosis pada fase G2. Apoptosis yang diinduksi pada sel Hep G2 mungkin dimediasi melalui jalur p53 dan induksi ekspresi p21 berasosiasi dengan sel siklus arrest G2.

SIMPULAN

Ekstrak etil asetat dan etanol memberikan hasil yang efektif dalam menghambat pertumbuhan dan proliferasi sel kanker limfoma Raji. Ekstrak etanol pada konsentrasi 2600µg/ml menghambat proliferasi sel Raji tertinggi dibandingkan yang lain.

SARAN

Diperlukan penelitian lebih lanjut tentang mekanisme penghambatan sel kanker melalui metode apoptosis.

DAFTAR PUSTAKA

- AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. Washington DC: Assosiation of Official Agricultural Chemists.
- Asp NG, Johnson CG, Halmer H, Siljstrom M. 1983. Rapid enzymatic assay of insoluble dietary fiber. *J. Agr. Food Chem.*, 31: 476-482
- Awika J M, Rooney L W, Wu X, Prior L R, Zevallos L C. 2003. Screening Methods To Measure Antioxidant Activity of Sorghum (*Sorghum bicolor*) and Sorghum Products. *J. Agricultural. Food Chemistry*. 51(23): 6657-6662.
- Awika JM, Rooney LW (2004). Sorghum phytochemicals and their potential impact on human health. *Phytochemistry*. 65:1199-1221.
- Awika JM, Rooney LW, Waniska RD (2004). Properties of 3-deoxyanthocyanins from sorghum. *J. Agric. Food. Chem*. 52: 4388-4394.
- Awika J M., Yang L, Jimmy D., (2009). Comparative antioxidant, antiproliferative and phase II enzyme inducing potential of sorghum (*Sorghum bicolor*) varieties. *Journal Food Science and Technology*. 42 1041–1046
- Beti YA, Ispandi A, Sudaryono. 1990. Sorghum. Monografi No.5. malang: Balai Penelitian Tanaman Pangan.
- Bhatty, R.S.1995. Laboratory and pilot plant extraction and purification of β-glucans from hull-less barley and oat brans. *Journal of Cereal Science* 22: 163-170
- Cho, S.H., Choi, Y., Ha, T. Y. (2000). In vitro and in vivo effects of prosomillet, buckwheat and sorghum on cholesterol metabolism. *Journal of the federation of American Societies for Experimental Biology*, 14, A249

- Cowan MM. 1999. Plants product as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*; 564-582
- Dalimarta S. 2003. *Atlas tumbuhan Obat Indonesia*, Jakarta: Trubus Agriwidya
- Dehkharghanian M, Adenier H, Vijayalakshmi MA.2010. Analytical methods study of flavonoids in aqueous spinach extract using positive electrospray ionization tandem quadrupole mass spectrometry. *Food Chemistry* 121:863-870
- Harborne JB.1996. *Metode Fitokimia*. Padmawinata K, Soediro I, penerjemah, Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Houghton PJ, Raman A. 1998. *Laboratory Handbook for the Fractionation of Natural Extracts*. New York: Chapman & Hall.
- Dicko MH, Gruppen H, Traore AS, Voragen AGJ, Van Berkel WJH. 2005. Phenolic Compound and Related Enzyme as Determinants of Sorghum for Food Use. *Biotechno Moleculer Biology Rev* 1(1): 21 – 38.
- Dicko MH, Gruppen H, Traore AS, Voragen AGJ, Van Berkel WJH. 2006. Sorghum grain as human food in Africa: content of starch and amylase activities. *African Journal of Biotechnology* Vol. 5 (5), pp. 384-395
- Kampa, M., Alexaki, V.I., Notas, G., Nifli, A.P., Nistikaki, A., Hatzoglou, A., Bakogeorgou, E., Kouimtoglou, E., Boskou, D., Gravanis, A., and Castanas, E., 2003, Antiproliferative and apoptotic effects of selective phenolic acids on T47D human breast cancer cells: potential mechanisms of action, *Breast Cancer Res*, 6, R63-R74
- Kill, HY., Seong ES., Ghimire BK, Chung IM, Kwon SS. 2009. Antioxidant and antimicrobial activities of crude sorghum extract. *Food Chemistry* 115: 1234-1239
- Mohamed SK, Ahmed AA, Yagi SM, Alla AWA, 2009. Antioxidant and Antibacterial Activities of Total Polyphenols Isolated from Pigmented Sorghum (*Sorghum bicolor*) Lines. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology* 7(1): 51-58
- Puspawati GAK., 2009. Kajian Aktivitas Proliferasi Limfosit Dan Kapasitas Antioksidan Sorgum dan Jewawut Pada Tikus *Sprague Dawley*[tesis]. Institut Pertanian Bogor.
- Shih, CH., Siu YT, Song LM . 2007. Quantitative analysis of anticancer 3-deoxyanthocyanidins in infected sorghum seedlings. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55(2):254-259.
- Verbruggen. M. A.; Beldman. G.;Voragen. A. G. J.; Hollemans. M. Water-unextractable cell wall material from sorghum: isolation and characterization. 1993 *J. Cereal Sci.*, 17: 71-82.
- Verbruggen MA, Beldman G, Voragen AGJ (1998). Structures of enzymically derived oligosaccharides from sorghum glucuronoarabinoxylans. *Carbohydr. Res.* 306: 275-282
- [WHO] Worrld Health Organization.2009.Raising Awareness about Breast Cancer. <http://www.who.int/mediacentre/multimedia/podcasts/2009/index.html> [diakses 23 januari 2010]
- Yanuar W. 2009. Aktivitas Antioksidan dan Imunomodulator Serealia Non –Beras [tesis]. Institut Pertanian Bogor.
- Yi, W., Fischer, J., Krewer, G., and Akoh, C.C., 2005, Phenolic Compounds from blueberries Can Inhibit Colon Cancer Cell Proliferation and Induce Apoptosis, *J. Agric. Food Chem.*, 53, 7320 -7329.