

EFEK SINERGIS KUERSETIN DAN KURKUMIN SEBAGAI AGEN ANTIKANKER PADA SEL KANKER PARU HTB-183 DAN SEL VERO SECARA *IN VITRO*

Diana Rukmana Putri¹

¹*Fakultas Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta*
diana2000023124@webmail.uad.ac.id

Submitted :

Revised :

Accepted:

ABSTRAK

Kanker paru merupakan penyakit kanker dengan angka kejadian tertinggi menyebabkan kematian yang menjadi sorotan di Indonesia, salah satunya disebabkan perokok aktif maupun pasif. Tatalaksana pengobatan kanker paru biasanya dengan kemoterapi tetapi efek samping obat tinggi, hal ini perlu suatu agen ko-kemoterapi menggunakan kombinasi metabolit sekunder yaitu menggunakan kuersetin dan kurkumin karena diketahui mampu menghambat proliferasi sel kanker dan memicu apoptosis teruji secara *in vitro*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek sitotoksik, tingkat keamanan, dan efek sinergis dari efek kombinasi kuersetin dan kurkumin sebagai agen antikanker pada sel kanker paru HTB-183 dan sel Vero. Pencarian sinergisme senyawa perlu dilakukan untuk meminimalisir efek samping.

Penelitian yang dilakukan merupakan penelitian eksperimental dengan zat aktif kuersetin dan kurkumin yang kemudian di uji dengan metode MTT secara *in vitro* untuk mengevaluasi penghambatan pertumbuhan sel dengan parameter akhir IC₅₀ dan keamanan pada sel normal Vero dengan parameter indeks selektivitas serta mengetahui efek kombinasi sinergis aktivitas antikanker terhadap sel paru HTB 183 dengan parameter indeks kombinasi dari terhadap sitotoksitas. Seri konsentrasi yang digunakan kuersetin yaitu 250; 125; 31,25 µg/mL dan kurkumin yaitu 25; 12,5; 3,125 µg/mL, sedangkan untuk uji sitotoksik pada sel normal dilakukan terhadap sel Vero yaitu kuersetin dan kurkumin masing-masing dengan konsentrasi 100; 50; 25; dan 12,5 µg/mL.

Hasil penelitian yang telah dilakukan, nilai IC₅₀ dari kuersetin yaitu dengan nilai 65,51 ± 3,29 µg/mL dan kurkumin 10,26 ± 1,02 µg/mL terhadap sel kanker HTB-183. Nilai indeks selektivitas yang didapatkan untuk kuersetin 17,8 ± 276,82 dan kurkumin 5,4 ± 1,59 memiliki keamanan yang tinggi pada sel normal Vero. Berdasarkan penelitian menunjukkan kombinasi kuersetin dan kurkumin memiliki aktivitas antikanker terhadap sel kanker paru HTB-183 berada pada kuersetin dengan konsentrasi 16,25 µg/mL dan kurkumin dengan konsentrasi 1,25 µg/mL memiliki efek sinergis dengan indeks kombinasi 0,58 ± 0,04.

Kata kunci: kanker paru, efek sinergis, kuersetin, kurkumin, indeks kombinasi

ABSTRACT

Lung cancer is a cancer with the highest incidence of deaths that is in the spotlight in Indonesia, one of which is caused by active and passive smoking. The treatment for lung cancer is usually chemotherapy but the drug side effects are high, this requires a co-chemotherapy agent using a combination of secondary metabolites, namely using quercetin and curcumin because they are known to be able to inhibit cancer cell proliferation and trigger apoptosis as tested *in vitro*. This study aims to determine the cytotoxic effect, safety level, and synergistic effect of the combined effect of quercetin and curcumin as anticancer agents on HTB-183 lung cancer cells and Vero cells. It is necessary to search for compound synergism to minimize side effects.

The research carried out was an experimental study with the active substances quercetin and curcumin which were then tested using the MTT method in vitro to evaluate cell growth inhibition with the final parameter IC_{50} and safety on normal Vero cells with selectivity index parameters and to determine the effect of the synergistic combination of anticancer activity on cells. lung HTB 183 with combined index parameters of cytotoxicity. The concentration series used for quercetin is 250; 125; 31,25 $\mu\text{g/mL}$ and curcumin, namely 25; 12,5; 3,125 $\mu\text{g/mL}$, while the cytotoxic test on normal cells was carried out on Vero cells, namely quercetin and curcumin each with a concentration of 100; 50; 25; and 12,5 $\mu\text{g/mL}$.

The results of the research that has been carried out show that the IC_{50} value of quercetin is $65.51 \pm 3.29 \mu\text{g/mL}$ and curcumin is $10.26 \pm 1.02 \mu\text{g/mL}$ against HTB-183 cancer cells. The selectivity index values obtained for quercetin 17.8 ± 276.82 and curcumin $5,4 \pm 1,59$ have high safety in normal Vero cells. Based on research, it shows that the combination of quercetin and curcumin has anticancer activity against HTB-183 lung cancer cells in quercetin with a concentration of 16.25 $\mu\text{g/mL}$ and curcumin with a concentration of 1.25 $\mu\text{g/mL}$ which has a synergistic effect with a combination index of 0.58 ± 0.04 .

Key words: lung cancer, synergistic effect, quercetin, curcumin, combination index

PENDAHULUAN

Kanker paru-paru adalah kondisi tumor yang bersifat ganas muncul dari epitel bronkus (karsinoma bronkus) karena pertumbuhan sel-sel yang tidak terkendali dan bersifat kanker di dalam paru-paru (Joseph & Rotty, 2020). Informasi ini didapat dari *Global Cancer Observatory* sesuai (WHO) yang menyatakan tipe kanker paling mematikan di dunia yaitu kanker paru dengan data kematian 1.796.144 jiwa. Di Indonesia, kanker paru-paru merupakan jenis kanker dengan jumlah kasus baru tertinggi ke-3, mencapai sekitar 34.783 kasus dan menyebabkan sekitar kematian 30.843 selama tahun 2020 (Sari *et al.*, 2023). Pada data menunjukkan bahwa kanker paru-paru memiliki dampak signifikan pada laki-laki dengan persentase kasus sebesar 14,3% dari total kasus kanker, dan angka kematian sebesar 21,5%. Selain itu, kondisi ini juga cukup umum terjadi pada perempuan dengan persentase kasus sebesar 8,4% dan berkontribusi terhadap 13,7% dari jumlah kematian akibat kanker (Sung *et al.*, 2021).

Sekitar 80% - 90% kasus kanker paru-paru disebabkan oleh kebiasaan merokok, dan sekitar 40% polusi udara yang berkontribusi terhadap risiko terkena kanker paru-paru. Faktor riwayat keluarga memiliki pengaruh signifikan dengan kisaran risiko antara 25% hingga 37%, sementara riwayat kanker sebelumnya juga bisa menjadi faktor risiko. Perokok pasif memiliki risiko terkena kanker paru-paru karena terpapar pada asap rokok dan zat-zat karsinogenik (zat penyebab kanker) yang terdapat dalam asap rokok. Paparan berulang terhadap asap rokok dapat meningkatkan risiko terjadinya kanker paru-paru pada orang yang tidak merokok secara aktif. Ini menunjukkan pentingnya menghindari paparan asap rokok, baik untuk perokok maupun non-perokok, guna mengurangi risiko terkena berbagai penyakit, termasuk kanker paru-paru (Dilia *et al.*, 2022). Interaksi antara berbagai faktor risiko seperti rokok, polusi udara, faktor genetik, dan paparan karsinogen dapat memicu perubahan genetik dalam sel-sel paru-paru. Mutasi pada gen tertentu seperti *Epidermal Growth Factor Receptor* (EGFR) dan KRAS adalah contoh dari perubahan genetik yang sering terkait dengan kanker paru-paru. Mutasi pada gen-gen ini bisa menyebabkan pertumbuhan sel yang tidak terkendali dan pembentukan sel kanker yang bersifat ganas. Proses ini merupakan salah satu mekanisme utama yang menyebabkan perkembangan kanker paru-paru pada individu yang terpapar oleh faktor-faktor risiko tersebut selama jangka waktu yang cukup panjang (Febriani *et al.*, 2018).

Tatalaksana kanker paru mencakup beberapa metode seperti kemoterapi, pembedahan, dan radioterapi. Kemoterapi sering kali menjadi pilihan utama karena fleksibilitasnya dalam penggunaan pada pengobatan kanker, bahkan sebagai perawatan paliatif. Meskipun kemoterapi telah terbukti efektif tetapi kemoterapi memiliki kelemahan berupa efek samping

obat yang dapat memengaruhi berbagai organ tubuh. Oleh karena itu, pengembangan obat-obatan antikanker terus dilakukan dalam bidang farmakologi untuk menemukan terapi yang lebih efektif, dengan harapan memiliki lebih sedikit efek samping obat (Brown *et al.*, 2019).

Obat kanker salah satunya adalah cisplatin agen kemoterapi yang paling sering digunakan pada kanker paru. Cisplatin memiliki tingkat respon terhadap lesi metastasis kurang lebih 30%-50%. Mekanisme cisplatin sebagai agen antikanker adalah berinteraksi dengan DNA, mengatur protein kinase (ATM) dan mengaktifkan p53 yang mengarahkan serangkaian sinyal kaskade dan apoptosis pada sel kanker paru. Di samping dari efek terapeutik terdapat limitasi dari penggunaannya, salah satunya efek samping obat kanker (Brown *et al.*, 2019)

Salah satu strategi pengembangan farmasi sebagai antikanker perlu dicari bahan lain untuk pengobatan alternatif seperti kurkumin dan kuersetin untuk meminimalisir efek samping obat. Kurkumin dan kuersetin senyawa aktif yang banyak diteliti karena metabolit sekunder yang mempunyai aktivitas antitumor dengan potensi kuat terhadap sel kanker.

Kurkumin merupakan polifenol yang merepresentasikan komponen aktif yang diekstraksi dari rimpang kunyit. Selama beberapa tahun terakhir, banyak penelitian telah menunjukkan bahwa kurkumin memberikan efek anti kanker pada berbagai jenis kanker dengan menekan proliferasi dan metastasis sel serta menyebabkan kematian sel (Liu & Ho, 2018). Kurkumin mengakibatkan penurunan potensial membrane mitokondria dan pelepasan sitokrom c menuju sitosol, kemudian aktivasi dari caspase-9 dan caspase -3 pada *lini sel small cell lung cancer (SCLC)* (Zhang & Zhang, 2018). Pada sel A549 terjadi peningkatan ekspresi BAX dan menurunkan jumlah BCL-2. Dengan rasio tersebut kurkumin dapat menginduksi apoptosis. Kurkumin terbukti memiliki selektivitas yang tinggi terhadap sel kanker payudara MCF-7 dan MDA-MB 231 (Passos *et al.*, 2023). Namun sangat disayangkan potensi kurkumin tidak didukung dengan bioavailabilitas yang baik sehingga perlu strategi untuk meningkatkan bioavailabilitasnya dengan mengkombinasikannya dengan senyawa organik lain seperti kuersetin ataupun piperin (Mehta *et al.*, 2014).

Kuersetin merupakan polifenol yang dapat dijumpai pada buah-buahan seperti apel, anggur, bawang bombai, ceri, buah-buahan sitrus serta sayuran hijau. Kuersetin memiliki banyak efek biologi di antaranya yaitu sebagai antioksidan, antikanker, antiviral, pemicu apoptosis, penghambat protein kinase C, memodulasi siklus sel dan menghambat angiogenesis (Hackman *et al.*, 2020). Penelitian secara *in vitro* menunjukkan bahwa kuersetin memiliki afinitas pengikatan yang lebih baik terhadap protein Kinensin-5 sehingga lebih selektif mengikat sel-sel kanker untuk menghambat proliferasinya pada sel T47D dan sel HeLa (Zubair *et al.*, 2021). Selain itu, terbukti dapat berperan sebagai inhibitor dari sitokrom P450 3A4 dan modulator dari ABCB1 yang diharapkan apabila dikombinasikan dengan kurkumin dapat meningkatkan bioavailabilitasnya (Xingyu *et al.*, 2016). Kuersetin diketahui dapat menghalangi ikatan antara albumin dan kurkumin kemudian penelitian sebelumnya kuersetin terbukti berikatan dengan protein lebih kuat dibandingkan dengan kurkumin Tunggal. Hal ini, dapat meningkatkan bioavailabilitas dan potensinya sebagai agen antikanker yang sinergis apabila keduanya dikombinasikan (Moorthi & Kathiresan, 2015).

Kombinasi dari kuersetin dan kurkumin pada kanker paru-paru mencit yang diinduksi oleh benzo(a)pyrene dapat meningkatkan stabilitas p53 sehingga meningkatkan aktivitas dari enzim caspase 3 dan 9. Jika dibandingkan dengan mencit yang hanya diberikan benzo(a)pyrene aktivitas dari enzim caspase 3 dan caspase 9 sangat menurun (Zhang & Zhang, 2018). Hal ini, belum ada yang menggabungkan menggunakan kuersetin dan kurkumin untuk penanganan kanker paru HTB-183.

Melihat potensi kuersetin dan kurkumin dapat dikombinasikan sebagai antikanker paru mendorong peneliti untuk melakukan penelitian yang berjudul efek sinergis kuersetin dan kurkumin sebagai agen antikanker pada sel kanker paru HTB-183 dan sel Vero secara *in vitro*. Uji sitotoksik kombinasi sinergisme perlu dilakukan untuk mendapatkan nilai indeks kombinasi. Adanya resiko toksisitas senyawa antikanker pada sel normal sehingga perbandingan IC₅₀ sel normal dan sel kanker perlu dikaji untuk memperoleh indeks selektivitas yang aman untuk penghambatan pada sel normal.

METODE PENELITIAN

Penelitian yang akan direncanakan adalah penelitian eksperimental dengan zat aktif kurkumin dan kuersetin yang efek sinergis aktivitas anti kankernya di uji terhadap sel HTB-183 di Laboratorium Kultur *In Vitro* Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta dengan menggunakan uji sitotoksik MTT.

ALAT DAN BAHAN

1. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu LAF (Labconco[®]), ELISA reader (Bio-Rad[®]), inkubator CO₂ (Heraceus[®]), blue tip, mikroskop terbalik (Zeiss[®]), kerucut (Nunc[®]), timbangan analitik (Sartorius[®]), ujung kuning, mikropipet (Gilson[®]), Peralatan gelas (pyrex[®]), pelat 96-sumur (Nunc[®]), centrifuge (Sorvall[®]), cawan kultur jaringan, tabung Eppendorf, pusaran (Labinco[®] L46) dan Haemocytometer (Nebauer[®]).

2. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu sel kanker paru HTB-183 didapatkan dari Laboratorium Kultur Sel *in Vitro* Universitas Muhammadiyah Yogyakarta (UMY), kurkumin (MERCK-Schuchardt), kuersetin (MERCK-Schuchardt), media kultur (DMEM), Dimetil Sulfoksida (DMSO), larutan stopper berupa SDS (UltraPure[®]) 10% dalam 0,1 N HCl, Tripsin-EDTA 0,25% (Gibco[®]), reagen MTT (Vybrant[®]), larutan PBS pH 7,4 (Gibco[®]), aluminium foil, dan *tissue culture dish*.

PROSEDUR PENELITIAN

1. Pembuatan Larutan Uji Sitotoksik Tunggal pada Sel kanker Paru

Sebanyak 10 mg kuersetin dan 10 mg kurkumin dilarutkan dalam 1 mL DMSO dalam efendoff dengan bantuan vortex sehingga diperoleh konsentrasi 10.000 µg/mL untuk larutan uji masing-masing sel kanker paru HTB-183 dan sel Vero. Selanjutnya dibuat larutan seri kadar dari larutan uji sel kanker paru HTB-183 dengan konsentrasi kuersetin (250; 125; dan 31,25 µg/mL) dan konsentrasi kurkumin (25; 12,5; dan 3,125 µg/mL). Kemudian dibuat larutan seri kadar dari larutan uji sel Vero dengan konsentrasi kuersetin (100; 50; 25; dan 12,5 µg/mL) dan kurkumin (100; 50; 25; dan 12,5 µg/mL).

2. Pembuatan Larutan Kuersetin dan Kurkumin untuk Uji Kombinasi

Diambil 6,5 µL larutan induk kuersetin (10.000 µg/mL) dan tambahkan media 993,5 µL sehingga diperoleh 65 µg/mL. Diambil 1 µL larutan induk kurkumin (10.000 µg/mL) dan tambahkan media 999 µL sehingga diperoleh 10 µg/mL. Selanjutnya, dilakukan pengenceran untuk kuersetin dan kurkumin $\frac{1}{2}$, $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{8}$ kali sehingga diperoleh konsentrasi untuk kuersetin 65; 32,5; 16,25; 8,125 µg/mL sedangkan untuk kurkumin 10; 5; 2,5; 1,25 µg/mL.

3. Panen Sel

Sel dipanen ketika kondisi sel telah konfluen, kemudian media dibuang dan sel dicuci dengan PBS. Tripsin-EDTA ditambahkan untuk melepaskan sel dari matrik dan didiamkan selama 30 detik. Tripsin kemudian dibuang dan sel diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 1 menit. Untuk menginaktivkan tripsin, ditambahkan media 3 mL. Jika masih ada sel yang menggerombol, resuspensi sel menggunakan mikropipet dan sel dipindahkan ke *conical tube* steril baru (CCRC, 2017).

4. Preparasi Sel Uji Sitotoksik dan Uji Kombinasi

Uji sitotoksik pada preparasi sel kanker paru HTB-183 dibutuhkan sebanyak 42×10^4 sel/mL dan uji kombinasi 84×10^4 sel/mL. Konsentrasi sel yang digunakan untuk uji sebesar 10^5 /mL (CCRC, 2017).

5. Uji Aktivitas Sitotoksik Tunggal Sel Paru HTB-183 dan Tingkat keamanan sel Vero

Penentuan aktivitas sitotoksik dilakukan dengan cara sebanyak 100 µL sel sel kanker paru HTB-183 dan sel Vero dengan konsentrasi 10^5 /mL ditransfer ke dalam sumuran masing-masing yang berbeda. Untuk kontrol media disisakan sumuran kosong, kemudian diinkubasi dalam satu malam pada suhu 37°C. Kondisi distribusi sel dicek menggunakan *mikroskop*

inverted. Jika sel sudah 80% konfluen, medium pada tiap sumuran dibuang dan dicuci dengan PBS. Kurkumin dan kuersetin dengan seri konsentrasi yang berbeda ditambahkan 100 μL pada tiap sumuran dalam *plate* sesuai peta perlakuan dan diinkubasi pada suhu 37°C selama semalam dalam kondisi yang sudah dilembabkan 5% $\text{CO}_2/95\%$ udara atmosfer. *Plate* kemudian dikeluarkan dari inkubator dan sel dicuci dengan PBS. Reagen MTT sebanyak 100 μL ditambahkan dalam tiap sumuran yang berisi sampel perlakuan dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 2-4 jam. Sel yang hidup akan menunjukkan warna ungu karena bereaksi dengan MTT. Kondisi sel diamati menggunakan *mikroskop inverted*, untuk menghentikan reaksi MTT ditambahkan sebanyak 100 μL SDS 10% reagen *stopper* pada tiap sumuran. *Plate* diinkubasi pada suhu kamar selama semalam dalam kondisi dibungkus aluminium foil. Absorbansi sel dibaca menggunakan ELISA reader dan nilai IC_{50} dihitung sebagai parameter indeks selektivitas (CCRC, 2017).

6. Uji Penentuan Indeks Kombinasi

Penentuan indeks kombinasi dengan cara Sebanyak transfer 100 μL sel kanker paru HTB-183 dengan konsentrasi $10^5/\text{mL}$ ke dalam sumuran. Sumuran kosong disisakan untuk kontrol media. Amati keadaan sel dengan *mikroskop inverted* untuk melihat distribusi sel. Selanjutnya sel diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dalam kondisi yang sudah dilembabkan 5% $\text{CO}_2/95\%$ udara atmosfer dan berikan perlakuan pada sel setelah kembali normal. Apabila sel sudah mencapai 80% konfluen, medium pada tiap sumuran dibuang dan sel dicuci dengan PBS. Perlakuan sampel pada uji Indeks kombinasi dilakukan dengan menambahkan 50 μL kurkumin dengan konsentrasi IC_{50} $1/2$, $1/4$, $1/8$ dan 50 μL kuersetin dengan konsentrasi IC_{50} $1/2$, $1/4$, $1/8$ Kemudian *Plate* diinkubasi 24 jam pada suhu 37°C dalam kondisi yang sudah dilembabkan 5% $\text{CO}_2/95\%$ udara atmosfer. Media sel dibuang dan tiap sumuran dicuci dengan 100 μL PBS. Reagen MTT sebanyak 100 μL ditambahkan pada tiap sumuran dan diinkubasi selama 2-4 jam. Sel yang hidup akan menunjukkan warna ungu karena bereaksi dengan MTT, sedangkan sel yang mati tidak memiliki warna. Ketika diperiksa dengan mikroskop *inverted* telah terbentuk kristal formazan, tiap sumuran dalam *plate* ditambahkan *stopper* SDS 10% dalam HCl 0,01 N. *Plate* diinkubasi pada suhu ruang selama semalam dengan kondisi *plate* yang dibungkus. Absorbansi sel dibaca menggunakan ELISA reader dan dihitung nilai indeks kombinasinya sebagai parameter efek sinergisme antikanker (CCRC, 2017).

ANALISIS DATA

1. Analisis IC_{50} Kuersetin dan Kurkumin

Setelah mendapatkan absorbansi dilakukan perhitungan viabilitas sel dengan rumus sebagai berikut (CCRC, 2017):

$$\text{Prosentase sel hidup} = \frac{(\text{Absorbansi perlakuan} - \text{Absorbansi control media})}{(\text{Absorbansi control pelarut} - \text{Absorbansi control media})} \times 100\%$$

Setelah memperoleh prosentase sel hidup lalu membuat grafik log konsentrasi vs prosentase sel hidup dan dari grafik tersebut cari persamaan regresi linier. Lihat parameter r pada persamaan regresi linier. Jika nilai r lebih besar dari r tabel maka persamaan regresi linier memenuhi standar untuk mencari IC_{50} . Selanjutnya masukkan nilai y adalah 50 % pada persamaan regresi linier dan cari x nya kemudian hitung antilog dari konsentrasi tersebut sehingga diperoleh IC_{50} (CCRC, 2017). Apabila nilai IC_{50} lebih dari sama dengan 50% hal tersebut menandakan adanya aktivitas sitotoksik (CCRC, 2017). Setelah mengetahui IC_{50} dilanjutkan uji untuk mencari indeks kombinasi.

2. Analisis Data Indeks Selektivitas

Indeks selektivitas dihasilkan dengan membandingkan rasio IC_{50} dari sel vero terhadap sel kanker yang sedang diuji. Jika nilainya lebih dari 3, menunjukkan tingkat selektivitas yang tinggi dari obat (Morales Torres *et al.*, 2020). Perhitungan indeks selektivitas dilakukan menggunakan rumus yang tertera sebagai berikut:

$$\text{SI} = \frac{\text{IC}_{50} \text{ sel normal vero}}{\text{IC}_{50} \text{ sel kanker paru}}$$

3. Analisis Data Indeks Kombinasi

Setelah mendapatkan absorbansi dilakukan perhitungan viabilitas sel dengan rumus sebagai berikut (CCRC, 2017):

$$\text{Prosentase sel hidup} = \frac{(\text{Absorbansi perlakuan} - \text{Absorbansi control media})}{(\text{Absorbansi control pelarut} - \text{Absorbansi control media})} \times 100\%$$

Setelah mendapatkan prosentase sel hidup kemudian membuat grafik log konsentrasi vs prosentase sel hidup dan dari grafik tersebut cari persamaan regresi linier. Selanjutnya masukkan nilai y adalah viabilitas sel pada perlakuan kombinasi pada persamaan regresi linier dan cari x nya kemudian hitung antilog dari konsentrasi tersebut sehingga diperoleh konsentrasi kombinasi yang memberikan efek yang setara dengan konsentrasi tunggal. Rumus yang digunakan untuk mencari indeks kombinasi, yaitu:

$$CI = \frac{(D)1}{(Dx)1} + \frac{(D)2}{(Dx)2}$$

Dimana Dx adalah besar konsentrasi kombinasi yang memberikan efek yang setara dengan konsentrasi tunggal dan D₁, D₂ adalah konsentrasi dari kombinasi kedua senyawa untuk memberikan efek yang sama. Hasil dari perhitungan dapat diinterpretasikan pada **Tabel I** (CCRC, 2017).

Table I. Interpretasi nilai indeks kombinasi

Nilai CI Sinergisitas	Keterangan
< 0,1	Efek sinergis sangat kuat
0,1 – 0,3	Efek sinergis kuat
0,3 – 0,7	Efek sinergis
0,7 – 0,9	Efek sinergis ringan-sedang
0,9-1,1	Mendekati efek aditif
1,1-1,45	Efek antagonis ringan-sedang
1,45-3,3	Efek antagonis
>3,3	Efek antagonis kuat-sangat kuat

HASIL DAN PENELITIAN

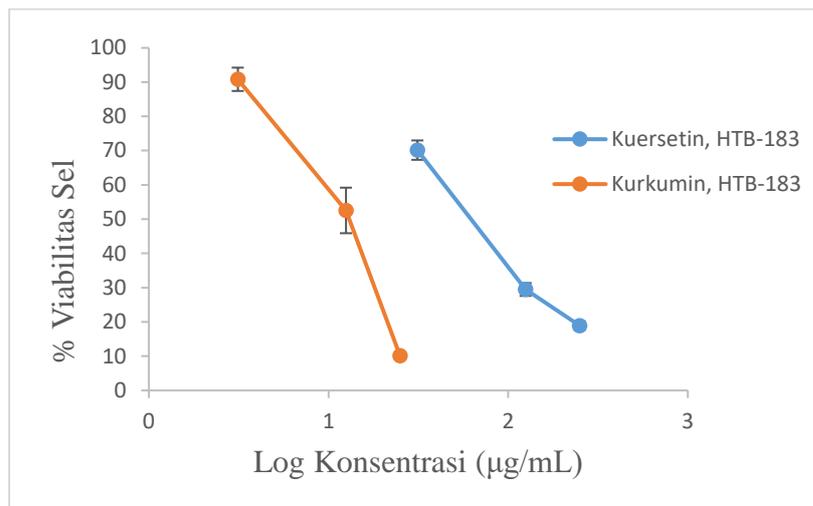
A. Uji Sitotoksik Sel Kanker Paru HTB-183

Uji sitotoksik dilakukan untuk mengetahui potensi ketoksikan terhadap sel kanker paru HTB-183. Uji yang digunakan pada penelitian ini adalah IC₅₀ (*Inhibitor concentration*). IC₅₀ merupakan konsentrasi kuersetin dan kurkumin yang mampu mematikan sel sebesar 50% dari populasi. Sebelum melakukan uji kombinasi, dilakukan uji sitotoksik untuk mengetahui IC₅₀ dari kuersetin dan kurkumin. Variasi konsentrasi yang digunakan untuk uji sitotoksik kuersetin (250; 125; dan 31,25 µg/mL) dan kurkumin (50; 25; dan 3,125 µg/mL). Setelah didapatkan nilai absorbansi masing-masing sampel, selanjutnya dihitung % viabilitas sel tiap replikasi terhadap sel kanker paru HTB-183 yang dapat dilihat pada **Tabel II**.

Tabel II. % Viabilitas sel pada sel kanker paru HTB-183

Sampel	Konsentrasi (µg/mL)	Log konsentrasi	% Viabilitas			Rata-rata
			R1	R2	R3	
Kuersetin	250	2,4	19,861	17,506	19,413	18,92 ± 1,25
	125	2,1	27,934	31,575	28,922	29,47 ± 1,88
	31,25	1,5	71,131	66,960	72,348	70,14 ± 2,82
Kurkumin	25	1,40	9,383	9,832	11,258	10,158 ± 0,97
	12,5	1,10	48,142	49,294	60,186	52,541 ± 6,64
	3,125	0,49	88,185	89,608	94,667	90,820 ± 3,40

Setelah mendapatkan % viabilitas kemudian menentukan IC₅₀ kuersetin dan kurkumin. Nilai IC₅₀ uji sitotoksik diperoleh dari antilog x, hubungan antara log konsentrasi vs persen sel hidup dengan metode persamaan regresi linear. Hubungan antara log konsentrasi larutan uji dan % viabilitas sel kanker paru HTB-183 dapat dilihat pada **Gambar 1**.



Gambar 1. Hubungan antara log konsentrasi vs % viabilitas pada sel HTB-183

Berdasarkan grafik log konsentrasi vs viabilitas sel didapatkan hasil dari perhitungan IC_{50} menggunakan aplikasi *Microsoft Excel* diperoleh persamaan regresi linier pada sel kanker paru HTB-183 menggunakan 3 rangkaian konsentrasi untuk kuersetin (250 µg/mL, 125 µg/mL, dan 31,25 µg/mL) sedangkan untuk kurkumin (25 µg/mL, 12,5 µg/mL, dan 3,125 µg/mL). Dapat dilihat bahwa semakin besar konsentrasi senyawa uji yang diberikan maka persentase sel hidup akan semakin sedikit. Sebaliknya semakin kecil konsentrasi senyawa uji yang diberikan pada perlakuan sel maka persentase sel hidup akan semakin besar. Kemudian dibuat dengan persamaan regresi linear, dimana jika dimasukkan nilai viabilitas sel sebesar 50% maka diperoleh hasil IC_{50} kuersetin dan kurkumin pada sel paru HTB-183 dilihat pada **Tabel III**.

Tabel III. Persamaan regresi linier nilai IC_{50} pada sel kanker paru HTB-183

Zat aktif	Persamaan regresi linier	R	IC_{50} (µg/mL)	Rata-rata
Kuersetin	$Y = -58,911x + 157,26$	0,988	66,18	65,51 ±
	$Y = -55,334x + 149,16$		61,95	3,2
	$Y = -60,545x + 161,11$		68,42	
Kurkumin	$Y = -84,295x + 132,58$	0,970	9,54	10,26 ±
	$Y = -85,283x + 134,57$		9,81	1,0
	$Y = -87,347x + 142,42$		11,43	

Aktivitas sitotoksik senyawa yang menargetkan sel kanker dapat dibagi menjadi empat tingkatan. Berdasarkan Institut Kanker Nasional (NCI) sebagai berikut: $IC_{50} \leq 20$ µg/mL = sangat sitotoksik, IC_{50} berkisar antara 21 - 200 µg/mL = sedang sitotoksik, IC_{50} berkisar antara 201 - 500 µg/mL = lemah sitotoksik dan $IC_{50} > 501$ µg/mL = tidak toksik (Sajjadi *et al.*, 2015).

Selain itu, Tingkat sitotoksitas dibagi menjadi tiga kelompok berdasarkan IC_{50} , yaitu konsentrasi dimana 50% sel yang diuji dihambat. Kelompok pertama adalah sitotoksitas potensial dengan IC_{50} kurang dari 100 µg/mL, kelompok kedua adalah sitotoksitas sedang dengan IC_{50} antara 100 hingga 1000 µg/mL, dan kelompok ketiga adalah non-toksik dengan IC_{50} lebih dari 1000 µg/mL. Senyawa dengan potensi sitotoksitas dapat digunakan sebagai agen antikanker, sedangkan senyawa dengan potensi sitotoksitas sedang dapat berfungsi sebagai agen kemoprevensi yang mencegah berkembangnya sel kanker (Widyanto *et al.*, 2020).

Berdasarkan hasil absorbansi pada **Tabel V**, setelah perhitungan IC_{50} maka diperoleh nilai (IC_{50}) 65,51 µg/mL untuk kuersetin dengan tingkat kepercayaan 90% ($\alpha = 0,1$) tergolong dalam antikanker dengan intensitas yang sedang sitotoksik. Pada penelitian lain kuersetin

dapat menginduksi lebih banyak penghentian siklus sel fase G0/G1 dan efek penghambatan yang lebih kuat pada sel A549, IC₅₀ kuersetin bernilai 24,17 µg/mL (Shahbaz *et al.*, 2023).

Setelah mendapatkan IC₅₀ dari sel kanker paru HTB-183 dilanjutkan dengan pengujian regresi linear sederhana kuersetin dengan SPSS output bagian kedua Model Summary menjelaskan besarnya nilai korelasi / hubungan (R) yaitu sebesar 0,988. Dari output tersebut diperoleh koefisien determinasi (R Square) sebesar 0,975, yang artinya pengaruh log konsentrasi terhadap viabilitas sel adalah 97,5% sedangkan sisanya 2,5% dipengaruhi oleh variabel lain. Kemudian pada output bagian keempat *Coefficients* diketahui nilai signifikan (Sig) sebesar 0,000 lebih kecil dari < 0,05, sehingga dapat disimpulkan bahwa ada pengaruh log konsentrasi (X) terhadap persen viabilitas sel (Y) (Baroroh & Sari, 2020)..

Berikutnya IC₅₀ kurkumin 10,26 µg/mL dengan tingkat kepercayaan 95% (α = 0,05) tergolong dalam antikanker dengan intensitas yang sangat sitotoksik. Pada penelitian lain kurkumin IC₅₀ sebesar 18,42 µg/mL sudah menunjukkan hasil menginduksi apoptosis *in vitro* pada sel A549 sehingga dapat menghambat proliferasi sel dengan jalur pensinyalan JAK2/STAT3 dan memberikan efek sitotoksik pada sel NSCLC A549 dengan menghambat jalur PI3K/Akt/mTOR (Wu *et al.*, 2015).

Pada pengujian regresi linear sederhana kurkumin dengan SPSS output bagian kedua Model Summary menjelaskan besarnya nilai korelasi / hubungan (R) yaitu sebesar 0,970. Dari output tersebut diperoleh koefisien determinasi (R Square) sebesar 0,942, yang artinya pengaruh log konsentrasi terhadap viabilitas sel adalah 94,2% sedangkan sisanya 5,8% dipengaruhi oleh variabel lain. Kemudian pada output bagian keempat *Coefficients* diketahui nilai signifikansi (Sig.) sebesar 0,000 lebih kecil dari < 0,05, sehingga dapat disimpulkan bahwa Ada pengaruh log konsentrasi (X) terhadap viabilitas sel (Y) (Baroroh & Sari, 2020)..

Dari hasil perhitungan IC₅₀ kedua senyawa, kurkumin memiliki IC₅₀ yang lebih rendah sangat sitotoksik, yaitu 10,26 ± 1,0 µg dibandingkan dengan kuersetin sedang sitotoksik dengan nilai IC₅₀ 65,51 ± 3,2 µg dan sama-sama tergolong sitotoksik potensial membunuh sel kanker paru HTB-183. Selanjutnya pada penelitian ini didapatkan nilai R hitung kuersetin (0,988) dan kurkumin (0,970) lebih besar dari R tabel (0,666) sehingga dapat disimpulkan bahwa kedua sampel terdapat korelasi antara log konsentrasi kurkumin dan kuersetin terhadap persen viabilitas sel kanker paru HTB-183.

B. Uji Aktivitas Sitotoksik dan Uji Tingkat Keamanan pada Sel Vero

Uji aktivitas sitotoksik pada sel Vero adalah mengetahui adanya potensi ketoksikan sehingga dapat menentukan keamanan dari sampel kuersetin dan kurkumin terhadap sel Vero. Indeks selektivitas adalah suatu parameter untuk mengukur kemampuan suatu bahan (senyawa) untuk membunuh secara selektif sel kanker dan bersifat aman terhadap sel normal Vero. Parameter indeks selektivitas digunakan untuk menghindari efek samping obat antikanker terhadap sel normal (Rahmawati & Maryati, 2021).

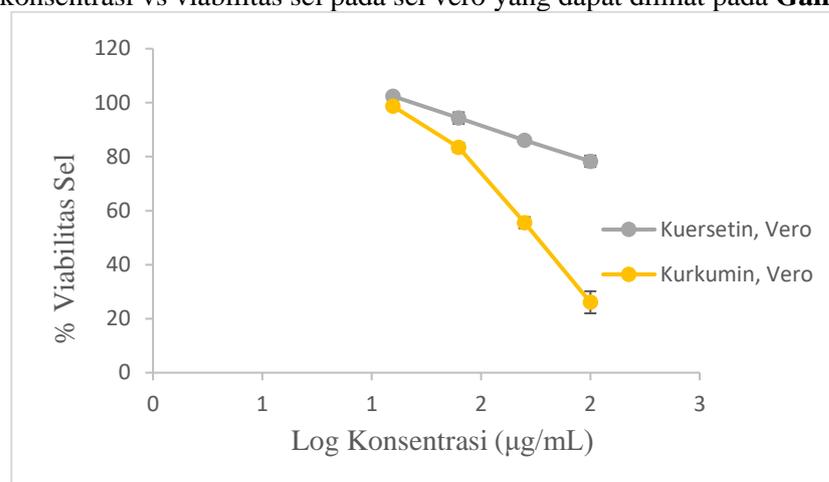
Pada penelitian ini konsentrasi yang digunakan untuk kuersetin dan kurkumin (100; 50; 25; dan 12,5 µg). Setelah didapatkan nilai absorbansi masing-masing sampel, selanjutnya dihitung % viabilitas sel tiap replikasi terhadap sel kanker paru HTB-183 yang dapat dilihat pada **Tabel IV**.

Tabel IV. % Viabilitas sel pada Sel Vero

Sampel	Konsentrasi (µg/mL)	Log konsentrasi	% Viabilitas			Rata-rata
			R1	R2	R3	
Kuersetin	100	2	77,039	77,221	80,743	78,334 ± 2,08
	50	1,70	86,331	86,362	85,543	86,079 ± 0,46
	25	1,40	92,019	94,763	96,175	94,319 ± 2,11
	12,5	1,10	101,639	102,831	102,794	102,421 ± 0,67
Kurkumin	100	2	29,974	26,470	21,820	26,088 ± 4,09
	50	1,70	54,626	54,143	57,926	55,565 ± 2,05
	25	1,40	81,949	83,194	85,284	83,476 ± 1,68
	12,5	1,10	97,643	99,612	98,963	98,739 ± 1,00

Setelah mendapatkan % viabilitas kemudian menentukan IC₅₀ kuersetin dan kurkumin

pada sel normal Vero. Nilai IC_{50} uji sitotoksik diperoleh dari antilog x, hubungan antara log konsentrasi vs persen sel hidup dengan metode persamaan regresi linear. Grafik hubungan antara log konsentrasi vs viabilitas sel pada sel vero yang dapat dilihat pada **Gambar 2**.



Gambar 2. Grafik Hubungan antara log konsentrasi vs % viabilitas sel Vero

Setelah didapatkan grafik antara log kadar vs % viabilitas sel pada sel vero, kemudian dibuat dengan persamaan regresi linear, dimana jika dimasukkan nilai viabilitas sel sebesar 50% maka diperoleh hasil nilai IC_{50} pada masing-masing perlakuan kuersetin dan kurkumin pada uji sitotoksik sel vero dilihat pada **Tabel V**.

Tabel V. Persamaan regresi linier nilai IC_{50} pada sel Vero

Zat aktif	Persamaan regresi linier	R	IC_{50} (µg/mL)	Rata-rata
Kuersetin	$Y = -26,405x + 130,14$	0,990	1084,00	1164,64 ± 276,82
	$Y = -28,313x + 134,14$		937,09	
Kurkumin	$Y = -25,507x + 130,81$	0,998	1472,82	55,53 ± 1,59
	$Y = -76,513x + 184,53$		57,31	
	$Y = -82,542x + 193,67$		55,03	
	$Y = -85,967x + 199,11$		54,26	

Berdasarkan **Tabel V** hasil perhitungan IC_{50} kedua senyawa, kurkumin memiliki IC_{50} bersifat toksik aktif, yaitu $55,53 \pm 1,59$ µg/mL dibandingkan dengan kuersetin bersifat toksik lemah dengan nilai IC_{50} $1164,64 \pm 276,82$ µg/mL pada sel Vero. Hasil tersebut menunjukkan bahwa meskipun kurkumin tunggal berefek pada sel kanker paru HTB-183 tetapi memiliki IC_{50} yang termasuk toksik pada sel Vero (normal). Hal ini mendukung perlunya dikombinasikan dengan ko-kemoterapi dalam penelitian ini kuersetin.

Selanjutnya dilakukan pengujian regresi linear sederhana kuersetin dengan SPSS output bagian kedua Model Summary menjelaskan besarnya nilai korelasi / hubungan (R) yaitu sebesar 0,990. Dari output tersebut diperoleh koefisien determinasi (R Square) sebesar 0,981, yang artinya pengaruh log konsentrasi terhadap viabilitas sel adalah 98,1% dan sisanya 1,9% dipengaruhi oleh variabel lain. Sedangkan kurkumin (R) yaitu sebesar 0,988. Dari output tersebut diperoleh koefisien determinasi (R Square) sebesar 0,976, yang artinya pengaruh log konsentrasi terhadap viabilitas sel adalah 97,6% dan sisanya 2,4% dipengaruhi oleh variabel lain. Pada nilai R hitung kuersetin (0,990) dan kurkumin (0,988) lebih besar dari R tabel (0,666) sehingga dapat disimpulkan bahwa kedua sampel terdapat korelasi antara log konsentrasi kurkumin dan kuersetin terhadap persen viabilitas sel Vero. Kemudian pada output bagian keempat Coefficients diketahui nilai signifikansi (Sig) sebesar 0,000 lebih kecil dari $< 0,05$, sehingga dapat disimpulkan bahwa Ada pengaruh log konsentrasi (X) terhadap viabilitas sel (Y) (Baroroh & Sari, 2020).

Setelah didapatkan IC_{50} dari sel normal selanjutnya dihitung nilai selektivitas index

pada sel normal untuk mengetahui seberapa toksik suatu senyawa pada sel normal. Hasil uji tingkat keamanan pada kuersetin dan kurkumin pada sel Vero dapat dilihat pada **Tabel VI**.

Tabel VI. Hasil Uji Tingkat Keamanan pada Sel Vero

Sampel	Sel		Indeks selektivitas	Rata-rata
	IC ₅₀ (µg/mL)			
	Vero	HTB-183		
Kuersetin	1084.00	66.18	16,38	17,6
	937.09	61.95	15,12	
	1472.82	68.42	21,52	
Kurkumin	57.31	9.54	6,00	5,4
	55.03	9.81	5,60	
	54.26	11.43	4,74	

Penilaian selektivitas dilakukan dengan membandingkan nilai IC₅₀ sampel pada sel normal terhadap nilai IC₅₀ sampel pada sel kanker. Sampel dikatakan selektif apabila memiliki nilai SI (*Selectivitas Index*) > 3, dan tidak selektif apabila nilai SI < 3 (Rahmawati & Maryati, 2021). Berdasarkan uji indeks selektivitas kuersetin dan kurkumin pada sel Vero adalah 17,8 dan 5,4 menunjukkan bahwa kuersetin dan kurkumin memiliki tingkat selektivitas yang tinggi terhadap sel kanker paru HTB-183. Pada penelitian lain secara *in vitro* menunjukkan bahwa kuersetin memiliki afinitas pengikatan yang lebih baik terhadap protein Kinensin-5 sehingga lebih selektif mengikat sel-sel kanker untuk menghambat proliferasinya pada sel T47D dan sel HeLa (Zubair *et al.*, 2021). Kurkumin terbukti memiliki selektivitas yang tinggi terhadap sel kanker payudara MCF-7 dan MDA-MB 231 (Passos *et al.*, 2023).

C. Uji Sitotoksik Kombinasi

Uji kombinasi dilakukan setelah mengetahui IC₅₀ dari kuersetin dan kurkumin. Variasi konsentrasi yang digunakan dalam pengujian ini yaitu berdasarkan kelipatan dari nilai IC₅₀ masing-masing perlakuan yaitu IC₅₀, ½ IC₅₀, ¼ IC₅₀, dan 1/8 IC₅₀. Hal ini dilakukan agar dapat mengurangi adanya resiko dalam penggunaan kombinasi antara kuersetin dan kurkumin. Rangkaian kombinasi yang digunakan untuk kuersetin adalah 65; 32,5; 16,25; dan 8,125 µg/mL sedangkan untuk kurkumin adalah 10; 5; 2,5; dan 1,25 µg/mL. Sampel diberikan berdasarkan peta perlakuan yang telah dibuat. Perbandingan kombinasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah 1:1. Setelah pemberian MTT serta *stopper*, sumuran kemudian diinkubasi di tempat gelap dengan suhu ruang semalaman, absorbansi dibaca menggunakan ELISA *reader* dan data yang didapatkan diolah untuk mengetahui % viabilitas sel. Hasil viabilitas sel pada kombinasi kuersetin dengan kurkumin dapat dilihat pada **Tabel VII**.

Tabel VII. Viabilitas Sel Kombinasi kuersetin dan kurkumin

Viabilitas Sel (%)					
Konsentrasi (µg/mL)		R1	R2	R3	Rata-rata
Kuersetin Paru HTB- 183	65 µg/mL	67,24	67,96	71,59	68,93 ± 2,33
	32,5 µg/mL	75,24	78,16	75,26	76,22 ± 1,68
	16,25 µg/mL	78,63	77,84	78,62	78,36 ± 0,45
	8,125 µg/mL	82,64	82,36	81,54	82,18 ± 0,57
Kurkumin Paru HTB- 183	10 µg/mL	21,00	26,43	22,78	23,40 ± 2,77
	5 µg/mL	83,93	81,61	79,46	81,67 ± 2,24
	2,5 µg/mL	110,00	103,52	113,69	109,07 ± 5,15
	1,25 µg/mL	129,06	120,03	132,82	127,30 ± 6,57
Kurkumin 10 µg/mL	Kuersetin 65 µg/mL	64,08	63,59	67,75	65,14 ± 67,32
	Kuersetin 32,5 µg/mL	67,79	66,42	67,77	67,32 ± 0,79
	Kuersetin 16,25 µg/mL	64,17	66,06	66,07	65,43 ± 1,09
	Kuersetin 8,125 µg/mL	65,34	68,77	70,83	68,31 ± 2,77

Kurkumin 5 µg/mL	Kuersetin 65 µg/mL	63,15	64,55	66,42	64,70 ± 1,63
	Kuersetin 32,5 µg/mL	70,90	70,67	69,70	70,42 ± 0,63
	Kuersetin 16,25 µg/mL	66,50	68,98	67,35	67,61 ± 1,25
	Kuersetin 8,125 µg/mL	70,20	70,16	72,15	70,83 ± 1,13
Kurkumin 2,5 µg/mL	Kuersetin 65 µg/mL	65,06	66,77	66,84	66,22 ± 1,00
	Kuersetin 32,5 µg/mL	70,96	71,63	73,04	71,87 ± 1,06
	Kuersetin 16,25 µg/mL	69,37	73,87	73,71	72,31 ± 2,55
	Kuersetin 8,125 µg/mL	73,51	72,23	74,11	73,28 ± 0,95
Kurkumin 1,25 µg/mL	Kuersetin 65 µg/mL	71,16	73,57	71,23	71,98 ± 1,37
	Kuersetin 32,5 µg/mL	72,77	75,70	77,22	75,22 ± 2,26
	Kuersetin 16,25 µg/mL	73,86	74,72	76,98	75,18 ± 1,61
	Kuersetin 8,125 µg/mL	74,86	77,79	75,81	76,15 ± 1,49

Setelah didapatkan % viabilitas sel selanjutnya diolah kembali untuk mengetahui nilai kombinasi indeks dari kombinasi kurkumin dan kuersetin, hasil kombinasi indeks pada **Tabel VIII**.

Tabel VIII. Indeks Kombinasi kuersetin dan kurkumin

Senyawa		Konsentrasi kuersetin (µg/mL)			
		65	32,5	16,25	8,125
Konsentrasi kurkumin (µg/mL)	10	2,35 ± 0,05	1,93 ± 0,01	1,79 ± 0,04	1,88 ± 0,09
	5	1,70 ± 0,15	1,40 ± 0,12	1,17 ± 0,01	1,22 ± 0,19
	2,5	1,19 ± 0,10	0,86 ± 0,08	0,77 ± 0,07	0,92 ± 0,45
	1,25	1,17 ± 0,06	0,79 ± 0,03	0,58 ± 0,04	0,78 ± 0,46

Hasil dari 16 uji sitotoksik kombinasi kuersetin dan kurkumin menghasilkan nilai indeks yang beragam, mulai dari memberikan efek sinergis hingga antagonis. Nilai indeks kombinasi (CI) menunjukkan efek sinergis dengan nilai CI antara 0,3 – 0,7. Berdasarkan hasil yang telah diperoleh menunjukkan kombinasi kuersetin dan kurkumin memiliki efek sinergis dengan nilai terbaik CI adalah 0,58 ± 0,054. Efek sinergis ini diperoleh dari konsentrasi kuersetin 16,25 µg/mL dan 1,25 µg /mL kurkumin. Nilai ini menunjukkan bahwa efek sitotoksik kombinasi kuersetin dan kurkumin lebih besar dibandingkan penjumlahan masing-masing efek pemberian senyawa tunggal terhadap sel kanker paru HTB-183.

Pada penelitian lain, kombinasi kuersetin dan kurkumin secara signifikan memicu apoptosis sel MGC-803 (Zhang & Zhang, 2018). Efek anti-proliferasi dan apoptosis dari kombinasi kuersetin dan kurkumin dalam sel K562 menunjukkan bahwa keduanya mempunyai efek sinergis yang menguntungkan (Altundag EM *et al.*, 2020). Pengobatan kombinasi Kuersetin dan kurkumin bertindak secara sinergis untuk menginduksi aktivitas antikanker terhadap sel TNBC dengan memodulasi gen penekan tumor (Srivastava, 2018).

Setelah mendapatkan nilai index kombinasi, lalu dilakukan uji statistik dengan Uji *non parametric Kruskal-Wallis*. *Kruskal-Wallis* merupakan alternatif uji ANOVA, terutama one way analysis of variance yang menguji rata-rata minimal sampel sama atau tidak sama. Digunakan ketika data tidak memenuhi asumsi distribusi normal dan sebaran yang sama. Selain itu, digunakan untuk mengukur ada tidaknya perbedaan nilai rata-rata lebih dari dua kelompok sampel yang saling independent pada penelitian desain comparison (perbandingan). Hasil dari pengujian tersebut menunjukkan bahwa pada penelitian ini dibuktikan dengan nilai sig dari uji *Kruskal-Wallis* tersebut menunjukkan nilai sig 0,000, artinya pada tiap perlakuan tunggal kuersetin, tunggal kurkumin maupun kombinasi kuersetin dan kurkumin memiliki perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) memiliki perbedaan yang bermakna pada tiap konsentrasi (Baroroh & Sari, 2020).

KESIMPULAN

Hasil penelitian yang telah dilakukan, nilai IC₅₀ dari kuersetin yaitu dengan nilai 65,51 µg /mL dan kurkumin 10,26 µg /mL terhadap sel kanker HTB-183. Nilai indeks selektivitas

yang didapatkan untuk kuersetin 17,8 dan kurkumin 5,4 memiliki keamanan yang tinggi pada sel normal Vero. Berdasarkan penelitian menunjukkan kombinasi kuersetin dan kurkumin memiliki aktivitas antikanker terhadap sel kanker paru HTB-183 pada kuersetin dengan konsentrasi 16,25 µg /mL dan kurkumin konsentrasi 1,25 µg /mL memiliki efek sinergis dengan indeks kombinasi 0,58.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih kepada Dr. apt. Laela Hayu Nurani, M.Si., selaku dosen pembimbing yang telah memberikan bimbingan, motivasi, dan arahan selama penelitian berlangsung hingga karya ini ditulis

REFERENSI

- Altundag EM, Yilmaz AM, Serdar BS, Jannuzzi AT, Koçtürk S, Y. A. (2020). *Synergistic Induction of Apoptosis by Quercetin and Curcumin in Chronic Myeloid Leukemia (K562) Cells: II. Signal Transduction Pathways Involved*, 73(4), 702–712. <https://doi.org/https://doi.org/10.1080/01635581.2020.1767167>
- Baroroh, F., & Sari, A. (2020). *Buku Komputer Terapan*.
- Brown, A., Kumar, S., & Tchounwou, P. B. (2019). *Cisplatin-Based Chemotherapy of Human Cancers*.
- CCRC. (2017). *Protokol In Vitro*, 22–29.
- Dilia, A., & Wisnawa, F. (2022). *Potensi Kurkumin Kombinasi Silibinin (Cur-Sil)-Loaded Nanopartikel Magnetik (Fe3O4) Termodifikasi [Poly(Ethylene Caprolactone)-Poly(Ethylene Glycol) (PCL-PEG)] Ko-polimer sebagai Inhibitor Gen Leptin dalam Tata Laksana Kanker Paru* (Vol. 49, Issue 1). www.pubmed.
- Febriani, A., Furqon Departemen Pulmonologi dan Ilmu Kedokteran Respirasi, A., Kedokteran, F., Airlangga, U., & Soetomo, R. (2018). *Metastasis Kanker Paru*.
- Hiren J Mehta, Vipul Patel, R. T. S. (2014). *Curcumin and Lung Cancer*, 9(4), 295–310. <https://doi.org/10.1007/s11523-014-0321-1>
- Joseph, J., & Rotty, L. W. A. (2020). Kanker Paru: Laporan Kasus. *Medical Scope Journal*, 2(1), 17–25. <https://doi.org/10.35790/msj.v2i1.31108>
- Liu, H. T., & Ho, Y. S. (2018). Anticancer effect of curcumin on breast cancer and stem cells. *Food Science and Human Wellness*, 7(2), 134–137. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2018.06.001>
- Moorthi, C., & Kathiresan, K. (2015). Curcumin-piperine/curcumin-quercetin/curcumin-silibinin dual drug-loaded nanoparticulate combination therapy: A novel approach to target and treat multidrug-resistant cancers. *Journal of Medical Hypotheses and Ideas*, 7(1), 15–20. <https://doi.org/10.1016/j.jmhi.2012.10.005>
- Morales Torres, C., Wu, M. Y., Hobor, S., Wainwright, E. N., Martin, M. J., Patel, H., Grey, W., Grönroos, E., Howell, S., Carvalho, J., Snijders, A. P., Bustin, M., Bonnet, D., Smith, P. D., Swanton, C., Howell, M., & Scaffidi, P. (2020). Selective inhibition of cancer cell self-renewal through a Quisinostat-histone H1.0 axis. *Nature Communications*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-020-15615-z>
- Passos, C. L. A., Polinati, R. M., Ferreira, C., dos Santos, N. A. N., Lima, D. G. V., da Silva, J. L., & Fialho, E. (2023). Curcumin and melphalan cotreatment induces cell cycle arrest and apoptosis in MDA-MB-231 breast cancer cells. *Scientific Reports*, 13(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-40535-5>
- Rahmawati, J., & Maryati, M. (2021). Aktivitas Sitotoksik dan Antiproliferasi Fraksi n-Heksan Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.) Terhadap sel T47D Cytotoxic and Antiproliferation Activity of n-Hexane Fraction of Avocado seed (*Persea americana* Mill) on T47D cell. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 18(1), 38–46. <http://journals.ums.ac.id/index.php/pharmacon>
- Sajjadi, S. E., Ghanadian, M., Haghighi, M., & Mouhebat, L. (2015). Cytotoxic effect of *Cousinia verbascifolia* Bunge against OVCAR-3 and HT-29 cancer cells. *Journal of HerbMed Pharmacology*, 4(1), 15–19.

- Sari, L., Romadloni, A., & Listyaningrum, R. (2023). Penerapan Data Mining dalam Analisis Prediksi Kanker Paru Menggunakan Algoritma Random Forest. *Infotekmesin*, 14(1), 155–162. <https://doi.org/10.35970/infotekmesin.v14i1.1751>
- Shahbaz, M., Naeem, H., Momal, U., Imran, M., Alsagaby, S. A., Al Abdulmonem, W., Waqar, A. B., El-Ghorab, A. H., Ghoneim, M. M., Abdelgawad, M. A., Shaker, M. E., Umar, M., Hussain, M., Kumar, R., & Al Jbawi, E. (2023). Anticancer and apoptosis inducing potential of quercetin against a wide range of human malignancies. *International Journal of Food Properties*, 26(1), 2590–2626. <https://doi.org/10.1080/10942912.2023.2252619>
- Srivastava NS, S. R. (2018). No Title. *Synergistic Anticancer Action of Quercetin and Curcumin against Triple-Negative Breast Cancer Cell Lines*, 234(7), 117–28. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/jcp.27761>
- Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray, F. (2021). Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 71(3), 209–249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
- Widyanto, R. M., Putri, J. A., Rahmi, Y., Proborini, W. D., & Utomo, B. (2020). Aktivitas Antioksidan Dan Sitotoksisitas In Vitro Ekstrak Metanol Buah Nanas (Ananas Comosus) Pada Sel Kanker Payudara T-47d. *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*, 8(2), 95–103. <https://doi.org/10.21776/ub.jpa.2020.008.02.5>
- Wu, L., Guo, L., Liang, Y., Liu, X., Jiang, L., & Wang, L. (2015). Curcumin suppresses stem-like traits of lung cancer cells via inhibiting the JAK2/STAT3 signaling pathway. *Oncology Reports*, 34(6), 3311–3317. <https://doi.org/10.3892/or.2015.4279>
- Xingyu, Z., Peijie, M., Dan, P., Youg, W., Daojun, W., Xinzheng, C., Xijun, Z., & Yangrong, S. (2016). Quercetin suppresses lung cancer growth by targeting Aurora B kinase. *Cancer Medicine*, 5(11), 3156–3165. <https://doi.org/10.1002/cam4.891>
- Zhang, P., & Zhang, X. (2018). Stimulatory effects of curcumin and quercetin on posttranslational modifications of p53 during lung carcinogenesis. *Human and Experimental Toxicology*, 37(6), 618–625. <https://doi.org/10.1177/0960327117714037>
- Zubair, M. S., Anam, S., Maulana, S., & Arba, M. (2021). In vitro and in silico studies of quercetin and daidzin as selective anticancer agents. *Indonesian Journal of Chemistry*, 21(2), 310–317. <https://doi.org/10.22146/ijc.53552>