

**EFEK SINERGIS KURKUMIN DAN KUERSETIN SEBAGAI
AGEN ANTIKANKER PADA SEL HELA DAN SEL VERO
SECARA *IN VITRO***

Dina Utari¹

¹*Fakultas Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta*
Email : *dina200002131@webmail.uad.ac.id*

Submitted : *Revised* : *Accepted* :

ABSTRAK

Kanker serviks adalah salah satu penyakit kanker yang paling umum terjadi pada wanita di seluruh dunia. Salah satu metode penanganan kanker serviks adalah dengan pemberian agen kemoterapi, tetapi memiliki kelemahan yakni efek samping toksik pada sel normal. Oleh karena itu perlu dikembangkan suatu agen ko-kemoterapi menggunakan gabungan metabolit sekunder seperti kurkumin dan kuersetin. Kurkumin dan kuersetin diketahui memiliki efek sinergis terhadap sel kanker. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui efek sitotoksik, selektivitas, dan efek sinergisme dari kombinasi kurkumin dan kuersetin terhadap sel kanker serviks HeLa dan sel Vero.

Metode yang digunakan adalah metode eksperimental dengan zat aktif kurkumin dan kuersetin kemudian ditelusuri efek sitotoksik, selektivitas, dan efek sinergis aktivitas antikankernya terhadap sel HeLa dan sel Vero dengan metode MTT. Parameter yang ditentukan adalah IC₅₀, indeks selektivitas, dan indeks kombinasi (CI).

Berdasarkan analisis diketahui bahwa kurkumin dan kuersetin mempunyai efek sitotoksik terhadap sel HeLa dengan nilai IC₅₀ sebesar 26,57 ± 2,00 µM dan 149,52 ± 21,09 µM. Uji sitotoksik pada sel Vero diperoleh nilai IC₅₀ kurkumin dan kuersetin sebesar 73,89 ± 12,93 µM dan 1094,47 ± 15,68 µM. Kurkumin dan kuersetin selektif pada sel HeLa dengan indeks selektivitas 2,78 dan 7,32. CI kombinasi kurkumin dan kuersetin pada konsentrasi ¼ IC₅₀ adalah 0,78 ± 0,03 menunjukkan efek sinergis ringan-sedang, sedangkan pada konsentrasi kombinasi IC₅₀ atau ½ IC₅₀ nilai CI >0,9 menunjukkan adanya efek antagonis.

Berdasarkan hasil uji dapat disimpulkan bahwa kombinasi kurkumin dan kuersetin memiliki aktivitas antikanker terhadap sel HeLa dan memiliki tingkat sinergis ringan hingga sedang dengan indeks kombinasi 0,78.

Kata kunci: Indeks kombinasi, kurkumin, kuersetin, kanker serviks

ABSTRACT

Cervical cancer is one of the most common cancers in women throughout the world. One method of treating cervical cancer is by administering chemotherapy agents, but it has the weakness of toxic side effects on normal cells. Therefore, it is necessary to develop a co-chemotherapy agent using a combination of secondary metabolites such as curcumin and quercetin. Curcumin and quercetin are known to have a synergistic effect on cancer cells. The aim of this research was to determine the cytotoxic effect, selectivity and synergistic effect of the combination of curcumin and quercetin on HeLa cervical cancer cells and Vero cells.

The method used was an experimental method with the active substances curcumin and quercetin, then the cytotoxic effect, selectivity and synergistic effect of their anticancer activity on HeLa cells and Vero cells were traced using the MTT method. The parameters determined are IC₅₀, selectivity index, and combination index (CI).

Based on the analysis, it is known that curcumin and quercetin have a cytotoxic effect on HeLa cells with IC_{50} values of $26,57 \pm 2,00 \mu M$ and $149,52 \pm 21,09 \mu M$. Cytotoxic tests on Vero cells obtained IC_{50} values for curcumin and quercetin of $73,89 \pm 12,93 \mu M$ and $1094,47 \pm 15,68 \mu M$. Curcumin and quercetin were selective in HeLa cells with selectivity indices of 2,78 and 7,32. The CI of the combination of curcumin and quercetin at a concentration of $1/4 IC_{50}$ is 0,78 indicating a mild-moderate synergistic effect, while at a combination concentration of IC_{50} or $1/2 IC_{50}$ the CI value is $> 0,9$ indicating an antagonistic effect.

Based on the test results, it can be concluded that the combination of curcumin and quercetin has anticancer activity against HeLa cells and has a mild to moderate synergistic level with a combination index of 0,78.

Key words: Combination index, quercetin, curcumin, cervical cancer

PENDAHULUAN

Kanker serviks adalah salah satu kanker yang paling umum terjadi pada wanita di seluruh dunia dan masuk kedalam sepuluh besar jenis kanker dengan angka kematian tertinggi di dunia dengan jumlah 341.831 jiwa di tahun 2020. Di Indonesia insiden kanker serviks berada pada posisi kedua dan menjadi penyebab kematian ketiga yang disebabkan oleh kanker dengan jumlah 21.003 kematian yang dilaporkan. Diikuti oleh kanker paru, liver, dan kolorektum dengan insidensi yang terbesar setelah kanker serviks (IARC, 2020). Salah satu metode penanganan kanker serviks adalah dengan pemberian agen kemoterapi seperti cisplatin yang bekerja dengan mencegah pembelahan sel kanker dan menghambat pertumbuhan aktifnya. Akan tetapi disamping efek terapetiknya, agen kemoterapi ini juga memiliki keterbatasan karena menimbulkan toksisitas pada jaringan normal sehingga menimbulkan efek samping yang khas seperti kebotakan, mual, muntah, kehilangan nafsu makan, dan efek jangka panjangnya bisa berdampak negatif pada kualitas hidup pasien (Ilancheran, 2016; Liontos *et al.*, 2019; Murtono *et al.*, 2019). Untuk meminimalkan efek samping dari agen kemoterapi, maka diperlukan suatu agen ko-kemoterapi agar efektivitas pengobatan dapat lebih selektif. Salah satu strategi yang dapat dilakukan adalah menggunakan metabolit sekunder dari tanaman yang memiliki aktivitas sitotoksik seperti kurkumin, kuersetin, vinblastin, dan rutin (Farha *et al.*, 2022; Lichota & Gwozdziński, 2018; Mansourizadeh *et al.*, 2020).

Kurkumin merupakan senyawa golongan polifenol berwarna kuning yang berasal dari rimpang kunyit. Kurkumin memiliki efek terapetik yang signifikan pada berbagai jenis penyakit seperti antikanker, antiinflamasi, antimutagenik, antioksidan, dan antimikroba (Hewlings & Kalman, 2017). Selama beberapa tahun terakhir, banyak penelitian telah membuktikan bahwa kurkumin memiliki efek antikanker pada berbagai jenis kanker dengan menekan proliferasi dan menyebabkan kematian sel (Liu & Ho, 2018). Pada lini sel kanker serviks, kurkumin diketahui bekerja dengan memicu henti siklus sel pada fase G2/M dan memicu apoptosis sel fase G1 dengan menghambat jalur Wnt/ β -catenin dan NF- κ B (Ghasemi *et al.*, 2019). Kurkumin juga diketahui memiliki selektivitas yang tinggi terhadap sel kanker payudara MCF-7 dan MDA-MB 231 (Passos *et al.*, 2023). Namun sangat disayangkan, kurkumin memiliki bioavailabilitas yang rendah (Ullah *et al.*, 2017). Untuk mengatasi keterbatasan tersebut, teknik modern seperti modifikasi struktural dan berbagai formulasi telah dieksplorasi. Salah satu teknik yang bisa dilakukan adalah mengkombinasikannya dengan *bioenhancer* seperti *piperine*, *quercetin*, dan *silibinin* (Moorthi & Kathiresan, 2013).

Kuersetin adalah flavonoid alami yang sering ditemukan pada sayur-sayuran dan buah-buahan seperti bawang bombay, apel, dan brokoli. Efek terapeutik kuersetin telah ditunjukkan pada berbagai penyakit, termasuk penyakit kardiovaskular, penyakit neurodegeneratif, dan kanker. Kuersetin telah terbukti memiliki efek sitotoksik pada berbagai sel kanker termasuk sel kanker mulut, sel kanker payudara, sel neuroblastoma, dan sel kanker serviks (Ali *et al.*, 2018; Dogan, 2022; Jasim *et al.*, 2023; Li & Wang, 2023). Pada sel kanker serviks, kuersetin secara sistematis mengubah jalur PI3K, MAPK, dan WNT dengan memodulasi ekspresi beberapa protein yang mengarah pada penghambatan proliferasi sel, penghentian siklus sel, kerusakan DNA, dan apoptosis (Sundaram *et al.*, 2019). Penelitian

secara *in vitro* juga membuktikan bahwa kuersetin memiliki selektivitas yang tinggi pada sel T47D (Zubair *et al.*, 2021). Hal ini juga sejalan dengan hasil penelitian *in silico* yang menunjukkan bahwa kuersetin memiliki afinitas pengikatan yang lebih baik terhadap protein Kinensin-5 sehingga lebih selektif mengikat sel-sel kanker untuk menghambat proliferasinya (ReddyPriya & Charan, 2023). Kuersetin juga telah terbukti dapat berikatan dengan protein lebih kuat dibandingkan kurkumin dan mampu menghalangi ikatan antara albumin dengan kurkumin sehingga apabila keduanya dikombinasikan dapat meningkatkan bioavailabilitas dan berpotensi sebagai agen antikanker yang sinergis (Ajazuddin *et al.*, 2014; Kundur *et al.*, 2019; Usacheva *et al.*, 2022).

Kombinasi kurkumin dan kuersetin memiliki potensi sinergisme yang menjanjikan pada berbagai jenis sel kanker baik secara *in vitro* maupun *in vivo*. Hasil penelitian terbaru menunjukkan bahwa kombinasi kurkumin dan kuersetin memiliki aktivitas sinergis yang kuat dibandingkan senyawa tunggalnya dalam menurunkan proliferasi sel dan menginduksi apoptosis pada sel kanker prostat (Pellegrino *et al.*, 2023). Hal ini juga sejalan dengan penelitian pada sel kanker lambung MGC-803 bahwa kombinasi kurkumin dan kuersetin juga terbukti lebih efektif daripada senyawa tunggal dengan kemampuan dalam menghambat fosforilasi AKT dan ERK serta menginduksi apoptosis melalui jalur mitokondria (Zhang *et al.*, 2015). Kombinasi kurkumin dan kuersetin juga telah terbukti sinergis pada sel kanker melanoma A375 dengan menghambat proliferasi dan memicu apoptosis melalui jalur pensinyalan Wnt/ β -catenin (Srivastava & Srivastava, 2019). Penelitian oleh Kundur *et al.* (2019) menunjukkan bahwa pada sel *triple-negative breast cancer* (TNBC), kombinasi kurkumin dan kuersetin meningkatkan efek antikanker secara sinergis dengan memodulasi gen penekan tumor (Kundur *et al.*, 2019). Pada studi lain kombinasi kurkumin dan kuersetin pada sel leukemia myeloid kronis K562 menunjukkan efek sinergis dengan menginduksi apoptosis, menghambat proliferasi sel, dan mempengaruhi berbagai jalur sinyal yang terlibat dalam siklus sel, peradangan, dan stres oksidatif (Altundag *et al.*, 2018). Penelitian secara *in vivo* pada karsinogenesis paru menunjukkan bahwa kombinasi kurkumin dan kuersetin juga terbukti dapat menurunkan p53 yang terfosforilasi pada paru-paru mencit yang diberikan *benzo(a)pyrene*, meningkatkan stabilitas dan efisiensi dari p53, serta meningkatkan aktivitas caspase-3 dan caspase -9 yang penting dalam terjadinya apoptosis pada sel (Zhang & Zhang, 2018).

Melihat potensi kurkumin dan kuersetin maka diperlukan penelitian lebih mendalam guna mengetahui aktivitas sitotoksik antikanker kurkumin dan kuersetin baik tunggal maupun kombinasi terhadap sel kanker serviks HeLa serta mengetahui selektivitas kurkumin dan kuersetin pada sel kanker serviks HeLa melalui parameter nilai indeks selektivitas. Pengujian aktivitas sitotoksik kombinasi dilakukan untuk mengetahui efek sinergisme kombinasi kurkumin dan kuersetin terhadap sel kanker serviks HeLa menggunakan parameter nilai indeks kombinasi.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang digunakan untuk mengetahui aktivitas sitotoksik, selektivitas, dan efek sinergisme kurkumin dan kuersetin terhadap sel HeLa dan sel Vero di lab kultur *in vitro* Universitas Muhammadiyah Yogyakarta dengan menggunakan uji sitotoksik MTT. Izin etik penelitian ini dikeluarkan dari KEP UAD dengan nomor 012212203.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah LAF (Labconco®), ELISA reader (Bio-Rad®), inkubator CO₂ (Heraceus®), *blue tip*, mikroskop *inverted* (Zeiss®), *conical tube* (Nunc®), timbangan analitik (Sartorius®), *yellow tip*, mikropipet (Gilson®), Alat-alat gelas (pyrex®), *96-well plate* (Nunc®), sentrifus (Sorvall®), *tissue culture dish*, *ependorf tube*, vortex (Labinco® L46), dan Haemositometer (Nebauer®). Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Sel HeLa dan sel Vero (Laboratorium Kultur Sel UMY), kurkumin (*MERCK-Schuchardt*), kuersetin (*Sigma-Aldrich*), 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®), DMEM, Dimetil Sulfoksida 1 % (DMSO), Aluminium foil, dan Tisu.

Prosedur Penelitian

1. Uji Sitotoksik pada Sel HeLa

Sebanyak 3,68 miligram kurkumin ($M_r = 368$) dilarutkan dalam 1 mL DMSO dalam *ependorf tube* dengan bantuan vortex sehingga diperoleh konsentrasi 10.000 μM . Sebanyak 3,02 mg kuersetin ($M_r=302$) dilarutkan dalam 1 mL DMSO dalam *ependorf tube* yang lain dengan bantuan vortex sehingga diperoleh konsentrasi 10.000 μM .

Penentuan aktivitas sitotoksik dilakukan dengan memasukkan 100 μl sel HeLa dengan konsentrasi $10^5/\text{mL}$ ke dalam sumuran. Untuk kontrol media disisakan sumuran kosong, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C . Kurkumin dan kuersetin dengan seri konsentrasi yang berbeda ditambahkan 100 μl pada tiap sumuran dalam *plate* dan diinkubasi pada suhu 37°C selama semalam dalam kondisi yang sudah dilembabkan 5% $\text{CO}_2/95\%$ udara atmosfer. Konsentrasi akhir kurkumin dalam *plate* sebesar 100, 50, 25, dan 12,5 μM . Konsentrasi akhir kuersetin sebesar 400, 100, 50, dan 12,5 μM . *Plate* kemudian dikeluarkan dari inkubator dan sel dicuci dengan PBS. Reagen MTT 0,5 mg/mL sebanyak 100 μl ditambahkan dalam setiap 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% dalam 0,01 N HCl sebagai 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 sitotoksik (CCRC, 2017).

2. Uji Sitotoksik pada Sel Vero

Penentuan aktivitas sitotoksik dilakukan dengan cara sebanyak 100 μl sel Vero dengan konsentrasi $10^5/\text{mL}$ ditransfer ke dalam sumuran. Untuk kontrol media disisakan sumuran kosong, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C . Kurkumin dan kuersetin dengan seri konsentrasi yang berbeda ditambahkan 100 μl pada tiap sumuran dalam *plate* dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dalam kondisi yang sudah dilembabkan 5% $\text{CO}_2/95\%$ udara atmosfer. Pengujian pada sel Vero dengan konsentrasi akhir pada *plate* untuk kurkumin dan kuersetin pada konsentrasi 25; 50; 100; dan 200. *Plate* kemudian dikeluarkan dari inkubator dan dicuci dengan PBS. Reagen MTT 0,5 mg/mL sebanyak 100 μl ditambahkan dalam setiap 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. Untuk menghentikan reaksi MTT ditambahkan sebanyak 100 μl SDS 10% dalam 0,01 N HCl sebagai 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 indeks selektivitas dihitung sebagai parameter selektivitas suatu agen antikanker (CCRC, 2017).

3. Uji Sitotoksik Kombinasi

Larutan induk kurkumin (10.000 μM) diambil sebanyak 2,6 μL dan ditambahkan media 997,4 μL sehingga diperoleh konsentrasi 26 μM . Larutan induk kuersetin (10.000 μM) diambil sebanyak 15 μL dan ditambahkan media 985 μL sehingga diperoleh konsentrasi 150 μM . Selanjutnya dilakukan pengenceran $1/2, 1/4, 1/8$ kali untuk kurkumin dan kuersetin sehingga diperoleh konsentrasi kurkumin 13; 6,5; dan 3,25 μM serta kuersetin 75; 37,5 dan 18,75 μM (CCRC, 2017).

Penentuan indeks kombinasi dilakukan dengan cara sebanyak 100 μl sel HeLa dengan konsentrasi $10^5/\text{mL}$ ditransfer ke dalam sumuran. Untuk kontrol media disisakan sumuran kosong, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C . 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 kurkumin dan kuersetin masing-masing 50 μL dengan konsentrasi sebesar $\text{IC}_{50}, \frac{1}{2} \text{IC}_{50}, \frac{1}{4} \text{IC}_{50}$ tiap sumuran dalam *plate* seperti pada **Tabel I**.

Tabel I. Konsentrasi kurkumin dan kuersetin pada uji kombinasi

Perbandingan ke-	Konsentrasi (μM)	
	Kurkumin	Kuersetin
1	26	150
2	13	75
3	6,5	37,5

Langkah selanjutnya *plate* dikeluarkan dari inkubator dan sel dicuci dengan PBS. Reagen MTT 0,5 mg/mL sebanyak 100 μl ditambahkan dalam setiap 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% dalam 0,01 N HCl sebagai reagen *stopper* pada tiap sumuran. *Plate* diinkubasi pada suhu kamar selama semalam dalam kondisi dibungkus *aluminium foil*. Absorbansi sel dibaca menggunakan ELISA *reader* dan dihitung nilai indeks kombinasinya sebagai parameter efek sinergisme antikanker (CCRC, 2017).

Analisis Data

1. Analisis IC_{50} Kurkumin dan Kuersetin

Uji sitotoksik dianalisis menggunakan perhitungan persentase sel hidup yang diperoleh dari pembacaan absorbansi menggunakan ELISA *reader* dengan rumus berikut:

$$\% \text{ Sel hidup} = \frac{(\text{Absorbansi perlakuan}) - (\text{Absorbansi kontrol media})}{(\text{Absorbansi kontrol sel}) - (\text{Absorbansi kontrol media})} \times 100\%$$

Dari hasil persentase sel hidup dibuat regresi linear hubungan antara log konsentrasi dengan persen sel hidup. Nilai 50 disubstitusikan pada y dalam persamaan regresi linier. Hasilnya adalah nilai x, yang mencerminkan konsentrasi di mana % sel hidup mencapai 50%. Nilai IC_{50} diperoleh dari antilog x persamaan pada regresi (CCRC, 2017).

2. Analisis Data Indeks Selektivitas

Indeks selektivitas (SI) pada dasarnya mencerminkan seberapa selektif sampel tersebut terhadap sel uji. Apabila nilai SI melebihi angka 2, hal tersebut mengindikasikan bahwa zat tersebut selektif terhadap sel kanker (Artun *et al.*, 2016). Indeks selektivitas dihitung dengan persamaan berikut :

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

3. Analisis Data Indeks Kombinasi

Setelah diperoleh data absorbansi, dicari grafik hubungan antara log konsentrasi dengan % sel hidup dan menghasilkan persamaan regresi linear $y=bx+a$. nilai y disubstitusikan dengan % sel hidup perlakuan kombinasi dan dicari nilai x. Nilai antilog x adalah konsentrasi kombinasi yang memberikan efek yang setara dengan konsentrasi tunggal. Rumus yang digunakan untuk mencari indeks kombinasi, yaitu:

$$CI = \frac{(C)_1}{(Cx)_1} + \frac{(C)_2}{(Cx)_2}$$

Dimana $(Cx)_1$ dan $(Cx)_2$ adalah besar konsentrasi kombinasi yang memberikan efek yang setara dengan konsentrasi tunggal yakni kurkumin dan kuersetin dan C_1 , C_2 adalah konsentrasi dari kombinasi kedua senyawa untuk memberikan efek yang sama (CCRC, 2017).. Untuk mengetahui apakah nilai indeks kombinasi hasil pengujian menghasilkan efek sinergis dapat diinterpretasikan menggunakan **Tabel II**. Setelah mendapatkan nilai indeks kombinasi dilakukan analisis statistik dengan uji *Kruskal-Wallis* untuk melihat ada atau tidaknya perbedaan yang signifikan dari setiap kelompok perlakuan.

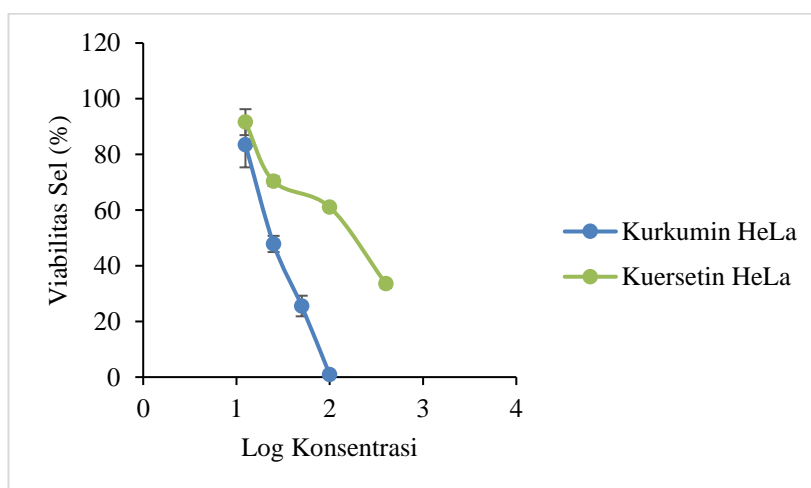
Tabel II. Interpretasi nilai CI

Nilai CI	Interpretasi Data
<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 PEMBAHASAN

1. Uji sitotoksik pada sel HeLa

Uji sitotoksik merupakan orientasi awal untuk menentukan konsentrasi senyawa uji yang digunakan dalam uji kombinasi. Pengujian sitotoksik dilakukan dengan menggunakan metode MTT Assay. Parameter yang digunakan untuk uji sitotoksik yaitu nilai IC_{50} yang menggambarkan konsentrasi suatu sampel dalam menghasilkan hambatan proliferasi sel sebesar 50% atau menyatakan potensi toksisitas suatu senyawa. Menurut *National Cancer Institute* (NCI) terdapat beberapa tingkatan toksisitas suatu senyawa berdasarkan nilai IC_{50} yaitu : $IC_{50} \leq 20 \mu\text{g/ml}$ = tinggi, $IC_{50} 21-200 \mu\text{g/ml}$ = sedang, $IC_{50} 201-500 \mu\text{g/ml}$ = lemah dan $IC_{50} > 501 \mu\text{g/ml}$ = tidak toksik (Sajjadi *et al.*, 2015). Kategori nilai IC_{50} oleh NCI juga menggambarkan bahwa semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin toksik senyawa tersebut dan sebaliknya semakin besar nilai IC_{50} maka semakin kecil potensi ketoksikannya. Nilai IC_{50} uji sitotoksik diperoleh dari antilog x, hubungan antara log konsentrasi vs persen sel hidup dengan metode persamaan regresi linear. Seri konsentrasi yang digunakan untuk uji sitotoksik dengan kurkumin adalah 100; 50; 25; 12,5 μM . Sedangkan untuk seri konsentrasi dengan kuersetin adalah 400; 100; 50; 12,5 μM . Hubungan antara log konsentrasi larutan uji dan % viabilitas sel HeLa disajikan pada **Gambar 1**.



Gambar 1. Grafik hubungan log konsentrasi kurkumin dan kuersetin vs % viabilitas pada sel HeLa.

Berdasarkan grafik log konsentrasi vs viabilitas sel diperoleh nilai IC_{50} kurkumin adalah $26,57 \pm 2,00 \mu\text{M}$ dan IC_{50} kuersetin adalah $149,52 \pm 21,09 \mu\text{M}$. Sehingga dapat disimpulkan bahwa kurkumin memiliki aktivitas sitotoksik dengan kategori yang tinggi, sedangkan kuersetin termasuk kategori senyawa sitotoksik sedang pada sel HeLa. Hasil

uji sitotoksik kurkumin dan kuersetin pada sel HeLa dapat dilihat pada **Tabel III**. Selanjutnya dilakukan analisis statistik regresi linier menggunakan SPSS untuk mengetahui koefisien korelasi, taraf signifikansi, dan besarnya pengaruh variabel bebas (X) terhadap variabel terikat (Y). Pada penelitian ini diperoleh nilai R hitung kurkumin dan kuersetin adalah 0,986 dan 0,969, yang keduanya lebih besar dari R tabel (0,576) sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat korelasi antara log konsentrasi kurkumin dan kuersetin terhadap persen viabilitas sel HeLa. Selain itu juga diperoleh nilai signifikansi sebesar 0,00 ($p < 0,05$) yang berarti bahwa log konsentrasi kurkumin dan kuersetin berpengaruh terhadap persen viabilitas sel HeLa. Pada perlakuan menggunakan kurkumin diperoleh nilai R *Square* sebesar 0,973 yang mengandung arti bahwa log konsentrasi kurkumin memiliki pengaruh sebesar 97,3% terhadap viabilitas sel HeLa. Sedangkan pada perlakuan menggunakan kuersetin diperoleh nilai R *square* sebesar 0,939 artinya bahwa log konsentrasi kuersetin memiliki pengaruh sebesar 93,9% terhadap viabilitas sel HeLa (Hajarisman & Herlina, 2022).

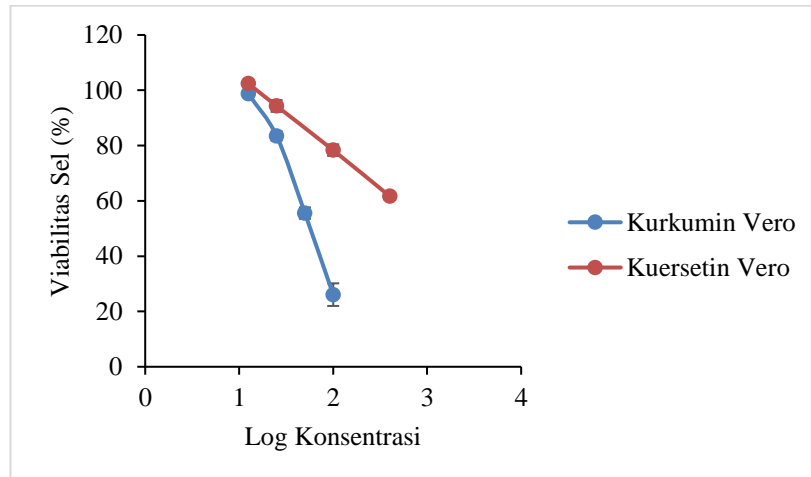
Tabel III. Hasil uji sitotoksik kurkumin dan kuersetin pada sel HeLa

Sampel	Persamaan regresi linier	R	IC ₅₀ (μM)	Rata-rata
Kirkumin	$y = -108,79x + 208,15$	0,986	28,43	26,57 ± 2,00
	$y = -99,225x + 187,71$		24,43	
	$y = -80,305x + 163,98$		26,26	
Kuersetin	$y = -37,19x + 131,18$	0,969	152,35	149,52 ± 21,09
	$y = -33,967x + 123,15$		169,05	
	$y = -34,295x + 125,12$		127,15	

Berdasarkan nilai IC₅₀ yang diperoleh dari penelitian ini, diketahui bahwa kurkumin dan kuersetin memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel HeLa. Efek sitotoksik kurkumin dan kuersetin disebabkan oleh kemampuannya dalam menginduksi apoptosis dan menghambat pertumbuhan sel kanker. Kurkumin diketahui dapat memicu henti siklus sel pada fase G2/M dan memicu apoptosis sel fase G1 dengan menghambat jalur Wnt/β-catenin dan NF-κB pada sel kanker serviks HeLa (Ghasemi *et al.*, 2019). Kurkumin juga memediasi apoptosis pada sel kanker serviks dengan mempromosikan generasi ROS yang pada gilirannya menyebabkan aktivasi protein stres retikulum endoplasma (ERS) (Kim *et al.*, 2016). Sejalan dengan senyawa kurkumin, kuersetin secara sistematis mengubah jalur PI3K, MAPK, dan WNT dengan memodulasi ekspresi beberapa protein yang mengarah pada penghambatan proliferasi sel, penghentian siklus sel, kerusakan DNA, dan apoptosis (Sundaram *et al.*, 2019). Kuersetin juga diketahui menginduksi stres retikulum endoplasma tumor (ERS) dan apoptosis pada sel kanker serviks (He *et al.*, 2021).

2. Uji sitotoksik pada sel Vero

Pengujian sitotoksik pada sel Vero bertujuan untuk mengetahui adanya potensi ketoksikan dan keamanan dari masing-masing sampel yaitu kurkumin dan kuersetin pada sel normal Vero. Hasil uji sitotoksik pada sel Vero adalah nilai IC₅₀ yang merupakan salah satu parameter untuk menentukan indeks selektivitas. Hubungan antara konsentrasi log vs % viabilitas kurkumin dan kuersetin terhadap sel Vero ditunjukkan pada **Gambar 2**.



Gambar 2. Grafik hubungan log konsentrasi kurkumin dan kuersetin vs % viabilitas pada sel Vero.

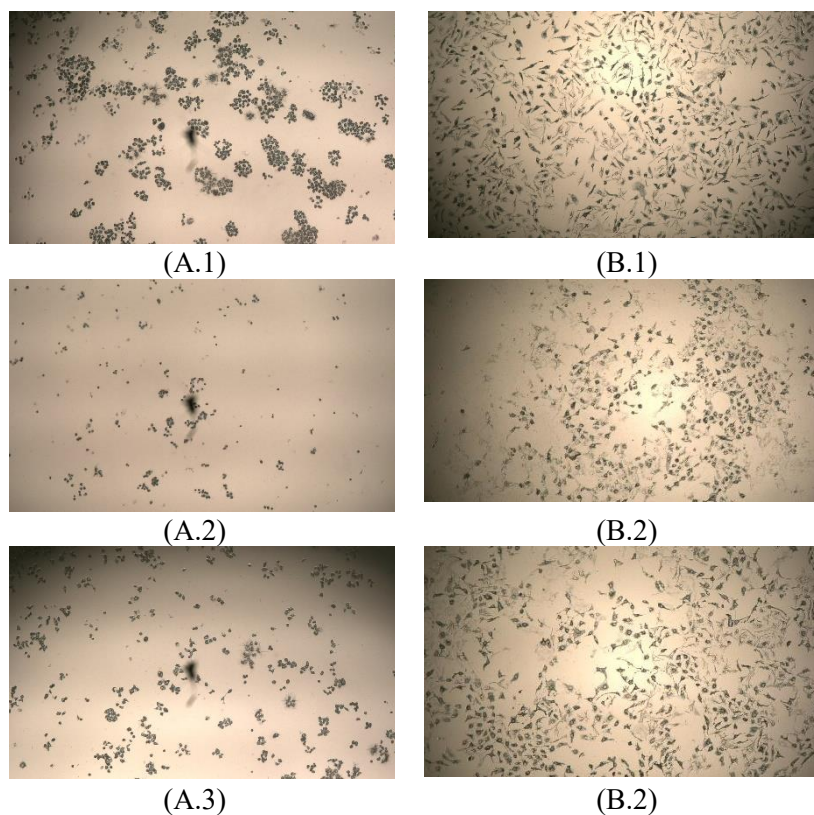
Berdasarkan grafik log konsentrasi vs viabilitas sel didapatkan hasil perhitungan IC_{50} kurkumin adalah $73,89 \pm 12,93 \mu M$ dan IC_{50} kuersetin adalah $1094,47 \pm 15,68 \mu M$. Sehingga dapat disimpulkan bahwa kurkumin bersifat toksik dengan kategori tinggi, sedangkan kuersetin bersifat toksik dengan kategori yang lemah pada sel normal Vero. Sedangkan pada hasil analisis statistik regresi linier menggunakan SPSS ini diperoleh nilai R hitung kurkumin dan kuersetin adalah 0,988 dan 0,996, yang keduanya lebih besar dari R tabel (0,576) sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat korelasi antara log konsentrasi kurkumin dan kuersetin terhadap persen viabilitas sel Vero. Selain itu juga diperoleh nilai signifikansi sebesar 0,00 ($p < 0,05$) yang berarti bahwa log konsentrasi kurkumin dan kuersetin berpengaruh terhadap persen viabilitas sel Vero. Pada perlakuan menggunakan kurkumin diperoleh nilai R *Square* sebesar 0,976 yang mengandung arti bahwa log konsentrasi kurkumin memiliki pengaruh sebesar 97,6% terhadap viabilitas sel Vero. Sedangkan pada perlakuan menggunakan kuersetin diperoleh nilai R *square* sebesar 0,993 artinya bahwa log konsentrasi kuersetin memiliki pengaruh sebesar 99,3% terhadap viabilitas sel Vero (Hajarisman & Herlina, 2022).

Tabel IV. Hasil indeks selektivitas kurkumin dan kuersetin

Sampel	Persamaan regresi linier	r	IC_{50} (μM)	Rata-rata
Kurkumin	$y = -76,513x + 184,53$	0,988	57,31	$73,89 \pm 12,93$
	$y = -82,542x + 193,67$		75,46	
	$y = -85,967x + 199,11$		88,88	
Kuersetin	$y = -26,33x + 129,76$	0,996	1069,66	$1094,47 \pm 15,68$
	$y = -26,833x + 132,02$		1139,42	
	$y = -27,922x + 134,65$		1075,62	

Atas hasil IC_{50} kurkumin dan kuersetin pada sel Vero menunjukkan bahwa meskipun kurkumin tunggal berefek pada sel HeLa namun juga memiliki IC_{50} yang termasuk toksik pada sel Vero (normal). Hal ini mendukung perlunya dikombinasikan dengan ko-kemoterapi dalam hal ini kuersetin. Pada penelitian ini, perubahan morfologi sel Vero antar tiap perlakuan juga diamati seperti yang disajikan pada **Gambar 3**. Sel Vero yang hidup akan tampak lonjong dan menempel pada dasar sumuran. Sedangkan sel Vero yang mati akan berubah bentuknya menjadi bulat dan mengapung. Sel HeLa yang hidup berbentuk bulat dan terdapat inti sel ditengah yang berwarna hitam kecil, sedangkan

sel HeLa yang mati berbentuk bulat dan warna hitam penuh (Winanta *et al.*, 2021). Bentuk sel juga tampak terdapat serabut hitam yang menunjukkan telah terbentuknya kristal formazan, yang menandakan sel yang hidup.



Gambar 3. Hasil uji MTT, A. sel Vero dan B. sel HeLa : 1. Kontrol; 2. Kurkumin 50 μM ; 3. Kuersetin 50 μM .

Selanjutnya untuk mengetahui selektivitas kurkumin dan kuersetin terhadap sel HeLa, dihitung menggunakan parameter indeks selektivitas. Indeks selektivitas dihitung dengan membandingkan nilai IC_{50} sampel pada sel Vero (normal) dengan nilai IC_{50} sampel pada sel HeLa. Hasil uji indeks selektivitas kurkumin dan kuersetin pada sel Vero adalah 2,78 dan 7,32. Hasil tersebut menunjukkan bahwa kurkumin dan kuersetin selektif terhadap sel HeLa sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Artun *et al* (2016) yang menyatakan bahwa apabila nilai indeks selektivitas melebihi angka 2, hal tersebut mengindikasikan bahwa zat tersebut selektif terhadap sel kanker (Artun *et al.*, 2016). Hasil indeks selektivitas kurkumin dan kuersetin disajikan pada **Tabel V**.

Tabel V. Hasil indeks selektivitas kurkumin dan kuersetin

Sampel	Sel	IC_{50} (rata rata \pm SD μM)	Indeks selektivitas
Kurkumin	Sel Vero	$73,89 \pm 12,93$	2,78
Kurkumin	Sel HeLa	$26,57 \pm 2,00$	
Kuersetin	Sel Vero	$1094,47 \pm 15,68$	7,32
Kuersetin	Sel HeLa	$149,52 \pm 21,09$	

3. Uji kombinasi

Uji kombinasi dilakukan setelah mengetahui IC_{50} dari kurkumin dan kuersetin. Variasi konsentrasi yang digunakan dalam pengujian ini berdasarkan kelipatan dari nilai IC_{50} masing-masing perlakuan yaitu IC_{50} , $\frac{1}{2} IC_{50}$, dan $\frac{1}{4} IC_{50}$. Hal ini dilakukan untuk mengurangi resiko dari penggunaan kombinasi kurkumin dan kuersetin. Sehingga seri konsentrasi sampel untuk kurkumin adalah 26; 13; 6,5 μM dan untuk kuersetin seri konsentrasi sampel yang digunakan adalah 150; 75; 37,5 μM . Sampel diberikan berdasarkan peta perlakuan yang telah dibuat. 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 sehingga mendapatkan hasil kombinasi indeks seperti pada **Tabel VI**.

Tabel VI. Indeks kombinasi kurkumin dan kuersetin

Konsentrasi Kombinasi		Indeks Kombinasi	Kategori Efek
Kurkumin (μM)	Kuersetin (μM)		
26	150	$1,59 \pm 0,06$	Antagonis
26	75	$1,55 \pm 0,08$	Antagonis
26	37,5	$1,26 \pm 0,06$	Antagonis ringan-sedang
13	150	$1,37 \pm 0,07$	Antagonis ringan-sedang
13	75	$1,22 \pm 0,08$	Antagonis ringan-sedang
13	37,5	$1,09 \pm 0,07$	Mendekati efek aditif
6,5	150	$1,39 \pm 0,13$	Antagonis ringan-sedang
6,5	75	$1,08 \pm 0,03$	Mendekati efek aditif
6,5	37,5	$0,78 \pm 0,03$	Sinergis ringan-sedang

Hasil dari 9 uji sitotoksik kombinasi kurkumin dengan kuersetin menghasilkan nilai indeks kombinasi (CI) yang beragam, mulai dari memberikan efek sinergis ringan hingga antagonis. Pada konsentrasi $\frac{1}{4} IC_{50}$ kurkumin dan kuersetin menunjukkan efek sinergis yang ringan-sedang terhadap sel HeLa dengan indeks kombinasi $0,78 \pm 0,03$. Hasil uji kombinasi kurkumin dan kuersetin pada IC_{50} dan $\frac{1}{2} IC_{50}$ menunjukkan sifat antagonis yang ditunjukkan dengan nilai indeks kombinasi lebih dari 0,9. Efek sinergis cenderung didapatkan pada konsentrasi rendah dibandingkan konsentrasi tinggi. Efek sinergis merupakan efek dari dua senyawa yang memiliki kerja serupa atau beda yang dikombinasikan lalu memberikan efek lebih besar dua kali lipatnya dibandingkan pemberian senyawa tunggalnya, Efek sinergis terjadi karena obat atau senyawa yang satu dapat memperkuat efek obat atau senyawa yang lain.

Setelah mendapatkan nilai indeks kombinasi, lalu dilakukan uji statistik untuk mengetahui perbedaan pada tiap perlakuan. Pertama dilakukan uji Sapiro Wilk digunakan untuk uji normalitas, dan uji Lavene untuk pengujian homogenitas. Hasil dari pengujian tersebut pada penelitian ini dikatakan homogen dan terdistribusi normal, dibuktikan dengan nilai sig dari kedua uji tersebut $> 0,05$. Selanjutnya dilakukan uji *one way Anova* yang bertujuan untuk melihat ada atau tidaknya perbedaan pada masing-masing kelompok perlakuan. Hasil uji *one way Anova* diperoleh nilai signifikansi sebesar 0,000 sehingga dapat disimpulkan bahwa setiap kelompok perlakuan memiliki perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$). Kemudian dilakukan uji *Post Hoc* LSD dengan taraf

kepercayaan 95% untuk mengetahui kelompok yang memiliki perbedaan. Hasil dari uji *Post Hoc* LSD menunjukkan bahwa kelompok yang memiliki perbedaan bermakna terhadap semua perlakuan adalah kelompok dengan kombinasi kurkumin 6,5 μ M dan kuersetin 37,5 μ M dengan nilai $p = 0,000$ (Rosalina *et al.*, 2023).

Kombinasi kurkumin dan kuersetin secara signifikan menghambat proliferasi, menghentikan siklus sel, dan menginduksi apoptosis sehingga menunjukkan aktivitas sinergis yang lebih kuat dibandingkan penggunaan obat tunggal (Pellegrino *et al.*, 2023). Kurkumin dan kuersetin memiliki berbagai jalur yang dapat menyebabkan apoptosis pada sel kanker. Salah satunya melalui jalur Wnt/ β -catenin yang dapat memproduksi berbagai jenis gen, beberapa di antaranya adalah siklooksigenase 2 (COX2), *cyclin* D1, dan Dvl2. Pada berbagai jenis tumor, ditemukan bahwa *cyclin* D1 diekspresikan secara berlebihan sehingga dapat memfasilitasi sel dari fase G₁ ke fase S. Kurkumin dan kuersetin diketahui mempengaruhi regulasi *cyclin* D1 dan Axin 2 yang kemudian dapat mereduksi β -catenin sehingga menekan gen proliferasi sel (Srivastava & Srivastava, 2019). Penelitian lainnya pada sel *Triple Negative Breast Cancer* menyatakan bahwa kombinasi kuersetin dan kurkumin meningkatkan promotor asetilasi BRCA1 histon H3K9. Kuersetin mengatur tingkat ekspresi agen proinflamasi seperti COX2 dan mengontrol asetilasi histon. Kuersetin juga dapat menghambat ekspresi β -catenin (Kundur *et al.*, 2019).

Pengobatan kombinasi dengan kurkumin dan kuersetin menginduksi apoptosis melalui jalur mitokondria. Pada sel kanker lambung MGC-803, kurkumin dan kuersetin menghasilkan penghambatan proliferasi sel yang signifikan disertai hilangnya potensi membran mitokondria, pelepasan sitokrom, dan penurunan fosforilasi AKT dan ERK (Zhang *et al.*, 2015). Penelitian serupa juga menunjukkan bahwa kombinasi kuersetin dan kurkumin memiliki potensi merusak integritas membran mitokondria melalui produksi ROS yang berujung pada pelepasan sitokrom c ke sitosol. Setelah dilepaskan dari mitokondria, sitokrom c dapat berinteraksi dengan Apaf-1, procaspase-9, dan dATP/ATP dan membentuk kompleks apoptosome. Kompleks apoptosome memberikan mekanisme aktivasi caspase-9 yang memicu reaksi kaskade caspase dan mengaktifkan caspase-3 untuk menghidrolisis protein substrat, termasuk PARP yang terbelah, dan akhirnya mengarah pada apoptosis. (Altundag *et al.*, 2018). Hal ini juga sejalan dengan penelitian *in vivo* yang menyatakan bahwa kombinasi kurkumin dan kuersetin juga mampu meningkatkan aktivitas caspase-3 dan -9 yang penting dalam terjadinya apoptosis pada sel kanker (Zhang & Zhang, 2018).

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan kombinasi kurkumin dan kuersetin memiliki aktivitas antikanker dan selektif pada sel kanker serviks HeLa serta berefek sinergis ringan-sedang dengan indeks kombinasi 0,78 pada konsentrasi $\frac{1}{4}$ IC₅₀.

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.

DAFTAR PUSTAKA

- Ajazuddin, Alexander, A., Qureshi, A., Kumari, L., Vaishnav, P., Sharma, M., Saraf, S., & Saraf, S. (2014). Role of herbal bioactives as a potential bioavailability enhancer for Active Pharmaceutical Ingredients. *Fitoterapia*, 97, 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2014.05.005>
- Ali, A., Kim, M. J., Kim, M. Y., Lee, H. J., Roh, G. S., Kim, H. J., Cho, G. J., & Choi, W. S. (2018). Quercetin induces cell death in cervical cancer by reducing O-GlcNAcylation of adenosine monophosphate-activated protein kinase. *Anatomy and Cell Biology*, 51(4), 274–283. <https://doi.org/10.5115/acb.2018.51.4.274>
- Altundag, M. E., Yılmaz, A. M., Koçtürk, S., Taga, Y., & Yalçın, A. S. (2018). Synergistic

- Induction of Apoptosis by aQuercetin and Curcumin in Chronic Myeloid Leukemia (K562) Cells. *Nutrition and Cancer*, 70(1), 97–108. <https://doi.org/10.1080/01635581.2018.1380208>
- Artun, F. T., Karagoz, A., Ozcan, G., Melikoglu, G., Anil, S., & Sutlupinar, N. (2016). Anticancer plant extracts on HeLa and Vero cell lines. *J Buon*, 21(3), 720–725. <https://www.jbuon.com/archive/21-3-720.pdf>
- CCRC. (2017). *Indonesian Society for Cancer Chemoprevention*.
- Dogan, M. (2022). Assessment of mechanism involved in the apoptotic and anti-cancer activity of Quercetin and Quercetin-loaded chitosan nanoparticles. *Medical Oncology*, 39(11), 1–18. <https://doi.org/10.1007/s12032-022-01820-x>
- Farha, A. K., Gan, R. Y., Li, H. Bin, Wu, D. T., Atanasov, A. G., Gul, K., Zhang, J. R., Yang, Q. Q., & Corke, H. (2022). The anticancer potential of the dietary polyphenol rutin: Current status, challenges, and perspectives. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(3), 832–859. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1829541>
- Ghasemi, F., Shafiee, M., Banikazemi, Z., Pourhanifeh, M. H., Khanbabaei, H., Shamshirian, A., Amiri Moghadam, S., ArefNezhad, R., Sahebkar, A., Avan, A., & Mirzaei, H. (2019). Curcumin inhibits NF-kB and Wnt/ β -catenin pathways in cervical cancer cells. *Pathology Research and Practice*, 215(10), 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.prp.2019.152556>
- He, C., Lu, X., Li, J., Shen, K., Bai, Y., Li, Y., Luan, H., & Tuo, S. (2021). The effect of quercetin on cervical cancer cells as determined by inducing tumor endoplasmic reticulum stress and apoptosis and its mechanism of action. *American Journal of Translational Research*, 13(5), 5240–5247.
- Hewlings, S. J., & Kalman, D. S. (2017). Curcumin: A review of its effects on human health. *Foods*, 6(10), 1–11. <https://doi.org/10.3390/foods6100092>
- IARC. (2020). Estimated number of incident cases and deaths Word, both sexes, all ages. *Global Cancer Observatory*, 74, 80. <https://gco.iarc.fr/today/online-analysis-multi-bars?>
- Ilancheran, A. (2016). Neoadjuvant chemotherapy in cervical cancer in pregnancy. *Best Practice and Research: Clinical Obstetrics and Gynaecology*, 33, 102–107. <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2015.10.008>
- Jasim, H. S., Al-Kubaisi, Z. A., & Al-Shmgani, H. S. (2023). Cytotoxic potential activity of quercetin derivatives on MCF-7 breast cancer cell line. *Bionatura*, 8(1), 1–5. <https://doi.org/10.21931/RB/2023.08.01.92>
- Kim, B., Kim, H. S., Jung, E. J., Lee, J. Y., K. Tsang, B., Lim, J. M., & Song, Y. S. (2016). Curcumin induces ER stress-mediated apoptosis through selective generation of reactive oxygen species in cervical cancer cells. *Molecular Carcinogenesis*, 55(5), 918–928. <https://doi.org/10.1002/mc.22332>
- Kundur, S., Prayag, A., Selvakumar, P., Nguyen, H., McKee, L., Cruz, C., Srinivasan, A., Shoyele, S., & Lakshmikuttyamma, A. (2019). Synergistic anticancer action of quercetin and curcumin against triple-negative breast cancer cell lines. *Journal of Cellular Physiology*, 234(7), 11103–11118. <https://doi.org/10.1002/jcp.27761>
- Li, N., & Wang, J. (2023). Quercetin induces cytotoxicity and apoptosis, reduces metastasis and drug resistance in oral cancer cells. *Turkish Journal of Biochemistry*, 0(0), 1–9. <https://doi.org/10.1515/tjb-2023-0003>
- Lichota, A., & Gwozdinski, K. (2018). Anticancer activity of natural compounds from plant and marine environment. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(11). <https://doi.org/10.3390/ijms19113533>
- Liontos, M., Kyriazoglou, A., Dimitriadis, I., Dimopoulos, M. A., & Bamias, A. (2019). Systemic therapy in cervical cancer: 30 years in review. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 137(February), 9–17. <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2019.02.009>
- 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>

- Mansourizadeh, F., Alberti, D., Bitonto, V., Tripepi, M., Sepehri, H., Khoee, S., & Geninatti Crich, S. (2020). Efficient synergistic combination effect of Quercetin with Curcumin on breast cancer cell apoptosis through their loading into Apo ferritin cavity. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, *191*(September 2019), 110982. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2020.110982>
- Moorthi, C., & Kathiresan, K. (2013). 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>
- Murtono, M., Ndi, M. Z., & Sugiyanto, S. (2019). Mathematical Model of Cervical Cancer Treatment Using Chemotherapy Drug. *Biology, Medicine, & Natural Product Chemistry*, *8*(1), 11–15. <https://doi.org/10.14421/biomedich.2019.81.11-15>
- 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>
- Pellegrino, M., Bevacqua, E., Frattaruolo, L., Cappello, A. R., Aquaro, S., & Tucci, P. (2023). Enhancing the Anticancer and Anti-Inflammatory Properties of Curcumin in Combination with Quercetin, for the Prevention and Treatment of Prostate Cancer. *Biomedicines*, *11*(7). <https://doi.org/10.3390/biomedicines11072023>
- ReddyPriya, G., & Charan, R. M. R. . (2023). *Comparative Study of Molecular Interaction of Quercetin and B4S With Kinensin-5 Protein In-Silico for the selective anticancer activity of Quercetin*. (pp. 1669–1676). *CARDIOMETRY*. <https://doi.org/1669-1676.10.18137/cardiometry.2022.25.16691676>
- 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.
- Srivastava, N. S., & Srivastava, R. A. K. (2019). Curcumin and quercetin synergistically inhibit cancer cell proliferation in multiple cancer cells and modulate Wnt/ β -catenin signaling and apoptotic pathways in A375 cells. *Phytomedicine*, *52*, 117–128. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2018.09.224>
- Sundaram, M. K., Raina, R., Afroze, N., Bajbouj, K., Hamad, M., Haque, S., & Hussain, A. (2019). Quercetin modulates signaling pathways and induces apoptosis in cervical cancer cells. *Bioscience Reports*, *39*(8), 1–17. <https://doi.org/10.1042/BSR20190720>
- Ullah, F., Liang, A., Rangel, A., Gyengesi, E., Niedermayer, G., & Münch, G. (2017). High bioavailability curcumin: an anti-inflammatory and neurosupportive bioactive nutrient for neurodegenerative diseases characterized by chronic neuroinflammation. *Archives of Toxicology*, *91*(4), 1623–1634. <https://doi.org/10.1007/s00204-017-1939-4>
- Usacheva, T., Gamov, G., Bychkova, A., Anufrikov, Y., Shasherina, A., Alister, D., Kuranova, N., & Sharnin, V. (2022). Binding of quercetin and curcumin to human serum albumin in aqueous dimethyl sulfoxide and in aqueous ethanol. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, *147*(9), 5511–5518. <https://doi.org/10.1007/s10973-022-11216-8>
- Winanta, A., Hanik, L. S., & Febriansah, R. (2021). Antioxidant Activity and Cytotoxic Potential of Parijoto (*Medinilla speciosa* (Reinw ex BL)) Fruit Fractions on HeLa Cell Line. *Indonesian Journal of Cancer Chemoprevention*, *12*(2), 74. <https://doi.org/10.14499/indonesianjcanchemoprev12iss2pp74-82>
- Zhang, Lin, M. T., Zhou, M. J., Yi, T., Tang, Y. N., Tang, S. L., Yang, Z. J., Zhao, Z. Z., & Chen, H. B. (2015). Combinational treatment of curcumin and quercetin against gastric cancer MGC-803 cells in vitro. *Molecules*, *20*(6), 11524–11534. <https://doi.org/10.3390/molecules200611524>
- 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>