

Uji sitotoksik ekstrak cabai merah keriting (*Capsicum annuum*) pada sel WiDr secara *in vitro*

(Cytotoxic assay of *Capsicum annuum* on WiDr Cells: *in vitro* study)

Amaq Fadholly^{1*}, Sri Agus Sudjarwo², Fedik Abdul Rantam³, Aulia Andi Mustika¹, Andriyanto¹, Diah Nugrahani Pristihadi¹, Lina Noviyanti Sutardi⁴

¹ Divisi Farmakologi dan Toksikologi, Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis, IPB University, Bogor, Indonesia

² Divisi Kedokteran Dasar, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia

³ Divisi Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia

⁴ Subdivisi Farmasi, Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis, IPB University, Bogor, Indonesia

Diterima: 13 Mei 2023 | Direvisi: 26 Juli 2023 | Disetujui: 27 Juli 2023

Abstrak

Kanker masih menjadi salah satu penyebab kematian di dunia. Salah satu alternatif metode untuk mengobati kanker adalah dengan obat herbal yang mempunyai khasiat sebagai antikanker. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis efek sitotoksik ekstrak *Capsicum annuum* pada sel WiDr. Kemampuan sitotoksik ekstrak *Capsicum annuum* diuji secara *in vitro* pada sel WiDr menggunakan metode MTT tetrazolium reduction assay. Hasil uji MTT menunjukkan bahwa ekstrak *Capsicum annuum* menghambat proliferasi sel WiDr seiring dengan peningkatan konsentrasi (400, 800, dan 1600 ppm), dengan persentase penghambatan sel tertinggi diperoleh pada konsentrasi 800 ppm dari setiap kelompok terapi 24, 48, dan 72 jam. Nilai *inhibitory concentration* 50 (IC₅₀) terendah dihasilkan oleh kelompok waktu terapi 48 jam, yaitu 651,18 ppm. Nilai IC₅₀ ekstrak *Capsicum annuum* untuk sel WiDr memiliki nilai yang tinggi yang menunjukkan belum efektif sebagai obat antikanker. Penelitian lebih lanjut dibutuhkan untuk mendapatkan dosis terbaik agar dapat menghambat pertumbuhan sel WiDr secara maksimal.

Kata kunci: antikanker | cabai merah keriting | herbal | kanker kolon

Abstract

Cancer is still one of the causes of death in the world. One of the alternative ways to cure cancer is herbal medicine which has anticancer properties. This study aims to analyze the cytotoxic effect of *Capsicum annuum* extract on WiDr cells. The cytotoxic value of *Capsicum annuum* extract was tested on WiDr cells using the MTT tetrazolium reduction test method. The results of the MTT test showed that *Capsicum annuum* extract inhibited the proliferation of WiDr cells along with the increasing concentrations (400, 800, and 1600 ppm). The highest proportion of cell arrest was obtained at a concentration of 800 ppm from each group (24, 48, and 72 hours). The lowest IC₅₀ value was 651.18 ppm in the 48 h treatment group. The IC₅₀ value of *Capsicum annuum* extract for WiDr cells has a high value that shows the extract is no longer effective as an anticancer drug. Further study is needed to get the best dose in order to inhibit WiDr cell growth maximally.

Keywords: anticancer | *Capsicum annuum* | colon cancer | herbal

*Penulis korespondensi: WA: +62 857-8475-0924, E-mail: amaqfadholly@apps.ipb.ac.id

© The Author(s) 2023. This article is licensed under a Creative Commons Attribution (CC BY 4.0) International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution, and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, and indicate if changes were made.

Pendahuluan

Komersialisasi komoditas rempah di dunia akhir-akhir ini sedang naik, salah satunya adalah cabai. Cabai menjadi salah satu rempah yang diminati karena memiliki kelebihan dalam aroma, warna, rasa, dan kepedasan. Tingkat kepedasan cabai dipengaruhi oleh kandungan senyawa kapsaisinoid (paling banyak ditemukan kapsaisin dan dihidrokapsaisin). Jenis cabai merah keriting (*Capsicum annuum*) menjadi salah satu komoditas yang banyak dicari. Cabai merah keriting adalah tumbuhan yang masuk ke dalam anggota genus *Capsicum*. Buah cabai merah keriting memiliki ukuran yang lebih kecil dibanding cabai merah biasa, tetapi memiliki tingkatan kepedasan yang lebih tinggi dan aroma yang lebih tajam dibanding cabai yang lain. Permukaan buah cabai keriting bergelombang dan tidak rata sehingga tampak dan memberi kesan “keriting”. Buah muda cabai keriting memiliki warna hijau dan ungu. Buah cabai keriting digolongkan sebagai sayuran atau bumbu, bergantung pada penggunaannya. Berdasarkan hasil penelitian, cabai merah keriting memiliki beberapa manfaat bagi kesehatan, seperti melancarkan sirkulasi darah, menyehatkan jantung, antikanker, serta memiliki nilai gizi yang baik dengan takaran tidak berlebihan untuk tubuh manusia (Bhalabhai *et al.*, 2021; Juhariah & Aulia, 2021).

Cabai keriting paling banyak mengandung senyawa kimia fenol yang didominasi oleh kelompok senyawa flavonoid dan kapsaisinoid serta beberapa asam fenolat, seperti asam ferulat, asam kumarat, dan asam sinamat. Senyawa bioaktif yang ada pada cabai keriting seperti fenol, karotenoid, alkaloid, flavonoid, dan kapsaisinoid memiliki korelasi yang positif dengan aktivitas antikanker, antioksidan, dan antimikrob yang dapat mengganggu sintesis membran sel bakteri. Salah satu senyawa kapsaisinoid yang paling banyak ditemukan pada buah cabai merah keriting ialah kapsaisin dan senyawa ini memiliki aktivitas sebagai antikanker dengan menghambat proliferasi sel kanker (Fathima, 2015;

Mandal *et al.*, 2023).

Kanker adalah keadaan sel normal yang berproliferasi dengan cepat dan dapat menyebar ke semua bagian-bagian tubuh. Berdasarkan data laporan *World Health Organization* (WHO), terdapat lebih dari 10 juta kasus kanker per tahun di dunia. Salah satu jenis kanker yang memiliki angka kematian yang tinggi adalah kanker kolon (de Martel *et al.*, 2020). Aplikasi terapi kanker dengan menggunakan radioterapi dan kemoterapi memiliki efek samping karena selain membunuh sel kanker, hasil penelitian menunjukkan kedua metode terapi tersebut juga bisa merusak sel-sel yang normal (Fabregas *et al.*, 2022). Metode terapi kanker yang lain, seperti imunoterapi, pembedahan, dan endokrinoterapi belum sepenuhnya memberikan hasil yang signifikan. Oleh karena itu, pendekatan yang menarik untuk dikembangkan adalah penggunaan ko-kemoterapi dengan obat dari bahan alam, seperti cabai merah keriting (Lee *et al.*, 2015).

Masyarakat pada saat ini banyak menggunakan cabai merah keriting ini sebagai bumbu dalam pengolahan pangan, sedangkan pemanfaatan sebagai sediaan dalam industri farmasi masih belum banyak dilaporkan (Maji & Banerji, 2016). Pemanfaatan *cell line* seperti sel WiDr (sel kanker kolon manusia) untuk uji antikanker telah banyak dilakukan dengan zat aktif yang lain, namun penelitian pemberian ekstrak cabai keriting pada sel WiDr belum pernah dilaporkan sebelumnya (Fadholly *et al.*, 2019). Berdasarkan potensi kandungan kapsaisin pada buah cabai merah keriting sebagai antikanker maka penelitian ini bertujuan untuk menganalisis potensi buah cabai merah keriting (*Capsicum annuum*) sebagai antikanker dengan mengkaji efek sitotoksik ekstrak buah ini pada sel WiDr.

Metode

Pernyataan etik

Semua perlakuan dan prosedur dalam penelitian ini telah disetujui oleh Komisi Etik Penelitian Kedokteran dan Kesehatan, Fakultas Kedokteran,

Universitas Gadjah Mada, Indonesia (nomor referensi: KE/ FK/ 0106/ EC/ 2018).

Reagen dan bahan kimia

Penelitian ini menggunakan bahan-bahan seperti *Dulbecco's modified Eagle medium* (DMEM) (Gibco, USA), *fetal bovine serum* (FBS) (Rocky Mountain Biologicals, Inc., USA), *Hepes* (Sigma Aldrich, USA), *penicillin-streptomycin* (Gibco, USA), *fungizone*, *phosphate buffer saline* (PBS), *trypsin-EDTA solution* (Sigma Aldrich, USA), *dimethyl sulfoxide* (DMSO) (Sigma Aldrich, USA), *3-(4,5-dimethylthiazole-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide* (MTT), SDS, HCl 0,1 N, RNase (BD Bioscience, San Diego, CA). Semua reagen dan bahan kimia yang digunakan merupakan kelas analitis.

Persiapan ekstrak *Capsicum annuum*

Buah *Capsicum annuum* dibeli dari pasar lokal di Surabaya, Jawa Timur, Indonesia. Buah dibersihkan, dipotong kecil-kecil, dan dikeringkan di tempat teduh, kemudian dihaluskan menjadi bentuk bubuk menggunakan *blender* dan disaring dengan saringan ukuran 0,2 mm. Serbuk buah *Capsicum annuum* dimaserasi dengan etanol 96% selama 72 jam pada suhu 37°C. Ekstrak diuapkan di penangas air pada suhu 60°C. Residu disimpan dalam kulkas pada suhu -4°C.

Kultur sel WiDr

Sel WiDr disediakan oleh Laboratorium Parasitologi, Fakultas Kedokteran, Keperawatan, dan Kesehatan Masyarakat, Universitas Gadjah Mada, Indonesia. Sel WiDr dikultur dalam media DMEM dan ditambah dengan FBS 10% (v/v), streptomisin-penisilin 3%, dan *fungizone* 1%, dan dilanjutkan dengan menginkubasi sel WiDr di dalam inkubator CO₂ 5% dengan suhu 37°C. Sel dikultur dalam *flask* ukuran 25 cm² dengan media sebanyak 7 ml dan dipanen menggunakan 0,25 *trypsin*-EDTA setelah kepadatan sel mencapai 80%.

Penghitungan nilai IC₅₀

Nilai *half maximal inhibitory concentration* (IC₅₀) ekstrak *Capsicum annuum* terhadap sel WiDr ditentukan oleh hasil MTT. Sel dikultur dalam pelat 96 sumur dengan kepadatan 1×10⁴ sel/sumur dengan volume 100 µL dan diinkubasi pada suhu 37°C, 5% CO₂ selama satu malam. Sel ditambahkan dengan berbagai konsentrasi ekstrak *Capsicum annuum* (400, 800, dan 1600 ppm) dan kultur dilanjutkan selama 24 jam. Untuk perlakuan kontrol, sel dikultur pada media yang tanpa diberikan ekstrak. Setelah kultur selama 24 jam, media yang lama selanjutnya diganti dengan 100 µL DMEM dan 10 µL MTT ditambahkan ke setiap sumur dan diinkubasi selama 4 jam. Sel yang hidup akan memetabolisme MTT menjadi formazan yang berwarna ungu. Media dilarutkan menggunakan 100 µL SDS dan dilanjutkan dengan pemberian *stopper* HCL 0,1 N. Aktivitas metabolisme sel yang hidup berdasarkan formazan yang terbentuk selanjutnya diukur menggunakan *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) *reader* (Biorad, USA) dengan absorbansi 595 nm.

Analisis data

Perbedaan nilai absorbansi dan IC₅₀ pada kelompok perlakuan dan kontrol dihitung menggunakan analisis regresi linier menggunakan *Microsoft Excel* 2020 (Microsoft Inc., USA) dan GraphPad 8.

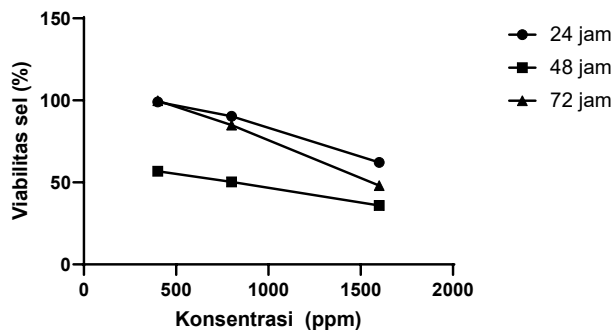
Hasil

Aktivitas sitotoksik ekstrak *Capsicum annuum* dievaluasi menggunakan metode MTT *tetrazolium reduction assay* dengan alasan reliabilitas yang mudah serta dapat diaplikasikan untuk berbagai jenis sel lestari (*cell line*). Hasil uji MTT menunjukkan bahwa viabilitas sel WiDr mengalami penurunan persentase dan sejalan dengan peningkatan pemberian konsentrasi ekstrak *Capsicum annuum* (400, 800, dan 1600 ppm). Hasil persentase

viabilitas sel WiDr terendah dari semua kelompok waktu terapi (24, 48, dan 72 jam) didapatkan pada konsentrasi 1600 ppm ekstrak *Capsicum annuum*, yaitu 62,17%, 35,89%, dan 48,11% yang disajikan pada **Tabel 1**. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak *Capsicum annuum* mempunyai potensi untuk menghambat proliferasi aktivitas sel WiDr, bergantung pada konsentrasi yang diberikan untuk terapi (**Gambar 1**).

Tabel 1 Persentase viabilitas sel WiDr setelah pemberian ekstrak *Capsicum annuum*

Inkubasi (jam)	Konsentrasi (ppm)	Viabilitas Sel (%)
24	400	99,12
	800	90,28
	1600	62,17
48	400	56,87
	800	50,33
	1600	35,89
72	400	99,78
	800	84,90
	1600	48,11



Gambar 1 Kurva viabilitas sel WiDr setelah pemberian ekstrak *Capsicum annuum* selama 24, 48, dan 72 jam.

Penghitungan IC_{50} ekstrak *Capsicum annuum* menghasilkan nilai IC_{50} sebesar 1.967,78 ppm, 651,18 ppm, dan 1.529,22 ppm pada kelompok perlakuan 24, 48, dan 72 jam. Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak *Capsicum annuum* memiliki potensi dalam menghambat aktivitas proliferasi sel WiDr bergantung pada dosis yang diberikan dan waktu yang dilakukan. Hasil waktu yang paling baik ditunjukkan pada kelompok perlakuan selama 48 jam dengan nilai IC_{50} yang paling rendah (**Tabel 2**).

Tabel 2 Nilai IC_{50} sel WiDr setelah pemberian ekstrak *Capsicum annuum*

Inkubasi (jam)	IC_{50} (ppm)
24	1.967,78
48	651,18
72	1.529,22

Pembahasan

Penelitian ini mengkaji potensi ekstrak cabai merah sebagai agen sitotoksistas pada sel WiDr. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan potensi sitotoksistas ekstrak cabai merah keriting pada sel WiDr pada waktu pemberian ekstrak yang berbeda. Pengelompokan nilai indeks aktivitas bahan alam terbagi menjadi empat kategori berdasarkan nilai IC_{50} , yaitu sitotoksistas tinggi (<20 ppm), sedang (20-100 ppm), rendah (100-1000 ppm), serta inaktif (>1000 ppm) (Zulfamy *et al.*, 2018). Berdasarkan penggolongan tersebut, pemberian ekstrak cabai merah keriting dalam waktu 48 jam menghasilkan efek sitotoksik rendah pada sel WiDr, yaitu dengan nilai IC_{50} 651,18 ppm. Waktu 48 jam ini adalah waktu paling optimal walaupun dengan efek sitotoksik yang masih digolongkan rendah. Sementara itu, sitotoksistas ekstrak cabai merah keriting kelompok waktu 24 dan 72 jam dapat dikatakan inaktif atau tidak menimbulkan efek sitotoksik yang bermakna (>1000 ppm). Hal ini mengindikasikan bahwa dengan lama waktu terapi yang digunakan dalam penelitian ini, sel WiDr memiliki resistansi terhadap ekstrak cabai merah keriting.

Hasil penelitian sebelumnya menyatakan bahwa ekstrak cabai merah keriting dilaporkan memiliki aktivitas sitotoksik pada sel MCF-7 (sel kanker payudara) dan bergantung pada dosis yang diberikan (Kurnijasanti dan Fadholly, 2020). Penelitian ini menggunakan sel WiDr sebagai salah satu sel lestari kanker usus besar. Berdasarkan hasil potensi *Capsicum annuum* sebagai antikanker telah didukung dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa ekstrak *Capsicum annuum*

memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan sel T47D (sel kanker payudara) dan menginduksi apoptosis melalui ekspresi caspase-3 (Kurnijasanti & Fadholly, 2021). *Capsicum annuum* juga dilaporkan dapat membunuh beberapa sel kanker, di antaranya adalah PC-3, A375, MCF7, PANC1, dan MDA-MB-231 (Chilczuk *et al.*, 2020; Al-Samydai *et al.*, 2021).

Potensi *Capsicum annuum* sebagai antikanker berasal dari kandungan zat aktif yang ada di dalamnya. Kandungan flavonoid dapat bekerja sebagai antiproliferasi sel kanker dan menginduksi apoptosis. Kandungan fenolik sebagai antikarsinogenik dapat menginduksi *cell cycle arrest* dengan cara menghambat jalur pensinyalan *cascade* proliferasi. Karotenoid dan alkaloid juga dilaporkan dapat menghambat proliferasi beberapa jenis sel kanker (Habli *et al.*, 2017; Gong *et al.*, 2018). Kandungan kapsaisin pada *Capsicum annuum* juga dilaporkan merupakan salah satu zat bioaktif yang kuat sebagai kandidat antikanker dengan mengubah ekspresi gen yang berkaitan dengan metastasis sehingga sel kanker tidak dapat tumbuh (Clark & Lee, 2016).

Simpulan

Kandungan zat aktif dalam ekstrak *Capsicum annuum* untuk sel WiDr memiliki IC₅₀ yang tinggi sehingga membutuhkan cara lain agar dapat memaksimalkan potensi penggunaan ekstrak *Capsicum annuum* sebagai antikanker. *Capsicum annuum* bekerja dengan cara menghambat proliferasi sel WiDr. Penelitian lebih lanjut dibutuhkan untuk mendapatkan dosis terbaik agar dapat menghambat pertumbuhan sel WiDr secara maksimal.

Ucapan terima kasih: Tidak ada.

Pendanaan: Tidak ada.

Konflik kepentingan: Semua penulis menyatakan tidak terdapat konflik kepentingan dalam penelitian ini.

Kontribusi penulis: AF merancang dan melaksanakan penelitian, AF, AAM, LNS, A, DNP menulis serta memberikan ulasan pada artikel.

Referensi

- Al-Samydai A, Bustanji YK, Azzam H, Al-Mamoori F, Al-Tawalbe DM, Abu-Irmaileh B, Aburjai T. 2021. Promising cytotoxicity and anticancer activity of *Capsicum annuum*. *Indian Journal of Forensic Medicine and Toxicology*, 15(3): 1766–1775.
- Bhalabhai JG, Rajhans S, Pandya H, Mankad A. 2021. A comprehensive review on *Capsicum* spp. *International Journal of Research and Analytical Reviews*, 8(4): 581–599.
- Chilczuk B, Marciniak B, Stochmal A, Pecio L, Kontek R, Jackowska I, Materska M. 2020. Anticancer potential and capsiainosides identification in lipophilic fraction of sweet pepper (*Capsicum annuum*). *Molecules*, 25(13): 3097. DOI: 10.3390/molecules25133097.
- Clark R, Lee SH. 2016. Anticancer properties of capsaicin against human cancer. *Anticancer Research*, 36(3): 837–843.
- de Martel C, Georges D, Bray F, Ferlay J, Clifford GM. 2020. Global burden of cancer attributable to infections in 2018: a worldwide incidence analysis. *The Lancet. Global Health*, 8(2): e180–e190. DOI: 10.1016/S2214-109X(19)30488-7.
- Fabregas JC, Ramnarain B, George TJ. 2022. Clinical updates for colon cancer care in 2022. *Clinical Colorectal Cancer*, 21(3): 198–203. DOI: 10.1016/j.clcc.2022.05.006.
- Fadholly A, Proboningrat A, Iskandar RPD, Rantam FA, Sudjarwo SA. 2019. In vitro anticancer activity *Annona squamosa* extract nanoparticle in WiDr cells. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*, 10(4): 149–154. DOI: 10.4103/japtr.JAPTR_10_19.
- Fathima SN. 2015. A systematic review on phytochemistry and pharmacological activities

- of *Capsicum annuum*. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Research*, 4(3):51–68.
- Gong X, Smith JR, Swanson HM, Rubin LP. 2018. Carotenoid lutein selectively inhibits breast cancer cell growth and potentiates the effect of chemotherapeutic agents through ROS-mediated mechanisms. *Molecules*, 23(4): 905. DOI: 10.3390/molecules23040905.
- Habli Z, Toumeh G, Faffat M, Rahal ON, Gali-Muhtasib H. 2017. Emerging cytotoxic alkaloids in the battle against cancer: overview of molecular mechanism. *Molecules*, 22(2): 250. DOI: 10.3390/molecules22020250.
- Juhariah J, Aulia MP. 2021. Analisis Tanaman cabai keriting dalam polybag menggunakan pupuk fermentasi urin sapi. *Metana: Media Komunikasi Rekayasa Proses dan Teknologi Tepat Guna*, 17(2): 49–54. DOI: 10.14710/metana.v17i2.42565.
- Kurnijasanti R, Fadholly A. 2021. Cytotoxic effect of *Capsicum annuum* L. extract on T47D cells: in vitro study. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 14(6): 3389–3392. DOI: 10.52711/0974-360X.2021.00589.
- Lee JW, Lee WB, Kim W, Min BI, Lee HS, Cho SH. 2015. Traditional herbal medicine for cancer pain: a systematic review and meta-analysis. *Complementary Therapies in Medicine*, 23(2): 265–274. DOI: 10.1016/j.ctim.2015.02.003.
- Maji AK, Banerji P. 2016. Phytochemistry and gastrointestinal benefits of the medicine spice, *Capsicum annuum* L. (Chili): a review. *Journal of Complementary and Integrative Medicine*, 13(2): 97–122. DOI: 10.1515/jcim-2015-0037.
- Mandal SK, Rath SK, Logesg R, Mishra SK, Devkota HP, Das N. 2023. *Capsicum annuum* L. and its bioactive constituents: a critical review of a traditional culinary spice in terms of its modern pharmacological potentials with toxicological issues. *Phytotherapy Research*, 37(3): 965–1002. DOI: 10.1002/ptr.7660.
- Zulfamy KE, Ardiansyah A, Budijanto S. 2018. Antioxidative properties and cytotoxic activity against colon cancer WiDr of *Rhizopus oryzae* and *Rhizopus oligosporus*-fermented black rice bran extract. *Current Research in Nutrition and Food Science Journal*, 6(1): 23–24. DOI: 10.12944/CRNFSJ.6.1.03.