

Sitotoksitas Ekstrak Cabe Merah Keriting (*Capsicum annuum*) Terhadap *HeLa Cell Lines*

(Cytotoxic Assay of *Capsicum Annuum* on HeLa Cell Lines)

Amaq Fadholly*

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

Diterima: 19/04/2024, Disetujui: 09/06/2024, Terbit Online: 24/06/2024

*Penulis untuk korespondensi: amaqfadholly@apps.ipb.ac.id

ABSTRAK

Kanker merupakan suatu penyakit sel yang ditandai dengan hilangnya fungsi kontrol sel terhadap regulasi daur sel maupun fungsi homeostatis sel pada organisme multiseluler. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis efek sitotoksik dan nilai IC_{50} dari ekstrak *Capsicum annuum* pada *cell line* HeLa sebagai salah satu sel uji untuk kanker serviks. Uji aktivitas sitotoksik ekstrak *Capsicum annuum* dilakukan dengan memberikan 5 seri konsentrasi bahan uji yaitu 50 $\mu\text{g/ml}$, 100 $\mu\text{g/ml}$, 200 $\mu\text{g/ml}$, dan 400 $\mu\text{g/ml}$ pada HeLa *cell lines* yang kemudian diinkubasikan selama 24 jam. Penghitungan sel dilakukan setelah pemberian MTT dan SDS *stopper*. Persentase inhibisi yang dihasilkan dari masing-masing konsentrasi sampel uji secara berturut-turut adalah 17,98%, 23,88%, 32,64%, dan 45,62%. Ekstrak *Capsicum annuum* mempunyai nilai IC_{50} sebesar 1,098 $\mu\text{g/mL}$. Berdasarkan data dari *National Cancer Institute* nilai IC_{50} dari *Capsicum annuum* terhadap HeLa *cell lines* termasuk dalam kategori sitotoksitas lemah. Sehingga dapat disimpulkan ekstrak *Capsicum annuum* tidak bersifat sitotoksik terhadap HeLa *cell lines*.

Kata Kunci: *Cell line*, cabai merah keriting, HeLa, herbal

ABSTRACT

Cancer is a cell disease characterized by loss of cell control function over cell cycle regulation and cell homeostatic function in multicellular organisms. This study aims to analyze the cytotoxic effect and IC_{50} value of *Capsicum annuum* extract on the HeLa cell line as a test cell for cervical cancer. Method: The cytotoxic activity test of *Capsicum annuum* extract was carried out by administering 5 series of test substance concentrations, 50 $\mu\text{g/ml}$, 100 $\mu\text{g/ml}$, 200 $\mu\text{g/ml}$, and 400 $\mu\text{g/ml}$ to HeLa cell lines which were then incubated for 24 hours. Cell counting was carried out after administration of MTT and SDS *stopper*. The percentage of inhibition resulting from each test sample concentration was 17.98%, 23.88%, 32.64%, and 45.62%, respectively. *Capsicum annuum* extract has an IC_{50} value of 1.098 $\mu\text{g/mL}$. Conclusion: Based on data from the *National Cancer Institute*, the IC_{50} value of *Capsicum annuum* against HeLa cell lines is included in the weak cytotoxicity category. Thus, it can be concluded that *Capsicum annuum* extract is not cytotoxic to HeLa cell lines.

Keywords: Cell line, *Capsicum annuum*, HeLa, herbal

1. Pendahuluan

Penyakit kanker merupakan salah satu penyebab kematian utama di seluruh dunia. Berdasarkan data GLOBOCAN, *International Agency for Research on Cancer* (IARC) diketahui bahwa pada tahun 2020, kanker serviks menjadi salah satu dari lima kanker teratas dengan kejadian terbanyak sekitar 604,127 kasus baru dan menjadi penyebab kematian sekitar 7,3 juta orang ^[1]. Sedangkan di Indonesia, pada tahun 2021 kanker serviks menempati urutan kedua setelah kanker payudara dengan angka kejadian sekitar 36,633 kasus baru dengan angka kematian sebesar 20,003 orang ^[2].

Masalah kanker umumnya dapat ditangani berdasarkan pada upaya pengangkatan jaringan kanker atau dengan mematikan sel kanker tersebut serta meminimalkan efek yang tidak diinginkan terhadap sel-sel normal. Hal ini harus diimbangi dengan pemberian obat-obatan berupa kemoterapi atau penyinaran dengan sinar X untuk mengatasi kemungkinan sel telah mengalami metastasis dan untuk menghambat proliferasi sel kanker yang mungkin masih tertinggal dan perlu terus dikembangkan usaha pengembangan obat yang aman dan efektif, salah satunya melalui eksplorasi alam. Indonesia merupakan negara kedua setelah Brazil yang memiliki keanekaragaman genetik cukup banyak. Para ilmuwan telah banyak menggali dan mengeksplorasi kekayaan alam untuk mencari peluang dalam mengembangkan obat-obatan baru ^[3]. Namun demikian, sampai sejauh ini baik mengenai kandungan kimia, khasiat maupun efek sampingnya dari tanaman obat belum banyak dilaporkan. Salah satu tumbuhan yang biasa digunakan masyarakat sebagai bahan obat adalah cabai merah keriting (*Capsicum annuum*) ^[4].

Capsicum annuum merupakan salah satu rempah komersial yang banyak digunakan masyarakat dalam perdagangan karena memiliki kelebihan dalam hal rasa, aroma serta rasa pedas yang berbeda-beda tergantung jenis cabainya. *Capsicum annuum* termasuk dalam anggota genus *Capsicum* yang memiliki karakteristik bentuknya berkelok-kelok dengan permukaan buah tidak rata sehingga diberi nama cabai merah keriting. Ukuran buah *Capsicum annuum* dibandingkan dengan cabai merah biasa juga jauh lebih kecil, namun memiliki rasa yang lebih pedas dengan aromanya yang lebih tajam. Banyak masyarakat yang sudah menggunakan *Capsicum annuum* untuk pengobatan secara empiris

seperti masalah pada jantung, melancarkan sirkulasi, antikanker, antibakteri serta antiinflamasi. *Capsicum annuum* juga memiliki analisis kandungan gizi yang baik untuk dikonsumsi dalam jumlah yang tidak berlebihan ^{[5][6]}.

Salah satu dari kandungan senyawa dari *Capsicum annuum* yang paling banyak digunakan untuk penelitian adalah capsaicin. Capsaicin merupakan zat bioaktif pada cabai yang menimbulkan rasa pedas dan panas ketika dimakan atau tersentuh oleh permukaan tubuh. Capsaicin sering digunakan untuk mengurangi nyeri karena khasiatnya sebagai anti inflamasi. Kandungan senyawa lain dari *Capsicum annuum* yang juga paling banyak dilakukan penelitian adalah golongan alkaloid, fenol, flavonoid yang memiliki khasiat terhadap sebagai antioksidan dan antimikroba dengan cara mengganggu sintesis membran sel bakteri serta sebagai antikanker dengan cara menghambat proliferasi dari sel kanker ^[7].

Studi pendahuluan juga telah dilakukan dalam eksplorasi khasiat *Capsicum annuum* dalam beberapa jenis *cell lines* kanker yang menunjukkan hasil bahwa *Capsicum annuum* dapat menghambat pertumbuhan T47D dan WiDr *cell lines* ^{[8][9]}. Untuk menambah khasanah ilmiah, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek sitotoksik dan mengetahui nilai IC₅₀ dari *Capsicum Annuum* terhadap HeLa *cell line*.

2. Materi dan Metode

2.1. Pernyataan Etik

Seluruh perlakuan dan prosedur dalam penelitian ini telah disetujui oleh Komisi Etik Penelitian Kedokteran dan Kesehatan, Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada, Indonesia (No: KE/FK/0106/EC/2018).

2.2. 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).

2.3. Persiapan Ekstrak *Capsicum annuum*

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

2.4. Kultur Cell Line HeLa

Cell line HeLa didapatkan dari Laboratorium Parasitologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada, Indonesia. Sel dikultur dalam media DMEM dan ditambah dengan FBS 10% (v/v), streptomisin-penisilin 3% dan *fungizone* 1%, dan diinkubasi dalam inkubator CO₂ 5% pada suhu 37°. Sel dikultur dalam *flask* ukuran 25 cm² dengan media sebanyak 7 ml dan dipanen menggunakan 0,25 *trypsine*-EDTA setelah kepadatan sel mencapai 80%.

2.5. Penghitungan Nilai IC₅₀

Larutan Uji dibuat dengan melarutkan 10 mg ekstrak *Capsicum annuum* dalam 100 µl DMSO. Dari larutan stok dibuat seri konsentrasi 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL, dan 400 µg/mL dalam media kultur DMEM untuk uji sitotoksik yang dilakukan secara triplo. Nilai IC₅₀ ekstrak *Capsicum annuum* terhadap HeLa *cell lines* ditentukan oleh hasil MTT. Sel dikultur dalam pelat 96 sumuran dengan kepadatan 1x10⁴ sel/sumuran dengan volum 100 µL dan diinkubasi pada suhu 37°, 5% CO₂ semalaman. Sel ditambahkan dengan berbagai konsentrasi selama 24 jam, kemudian media yang lama digantikan dengan 100 µL DMEM dan 10 µL MTT (5 mg MTT/ mL) ke setiap sumuran dan inkubasi selama 4 jam. Perlakuan kontrol sel hanya dengan media tanpa diberikan perlakuan. Kristal formazan yang terbentuk pada sel hidup dilarutkan dengan 100 µL SDS *stopper* HCL 0,1 N dan diukur menggunakan *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) *reader* (Bio Rad, USA) dengan absorbansi 595 nm.

2.6. Analisis data

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

3. Hasil

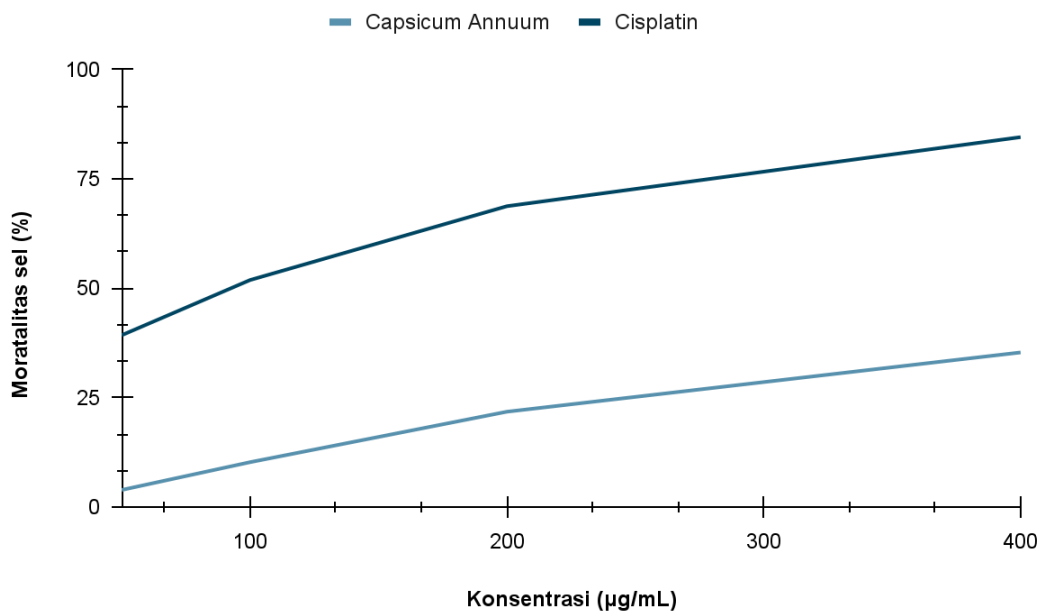
Hasil uji MTT dari ekstrak *Capsicum annuum* terhadap HeLa *cell line* mengungkapkan bahwa sitotoksitas sel yang diberikan perlakuan menurun secara bertahap seiring dengan meningkatnya konsentrasi sampel yang diberikan. Penghambatan pertumbuhan HeLa *cell lines* yang diberikan ekstrak *Capsicum annuum* hasil tertinggi ditemukan pada konsentrasi 400 µg/mL dengan nilai hambatan sebesar 45,62 %. Sementara itu, penghambatan pertumbuhan HeLa *cell lines* terendah ditemukan pada konsentrasi 50 µg/mL dengan nilai hambatan sebesar 17,98 %. Nilai sitotoksitas dalam menghambat pertumbuhan sel dari dua konsentrasi lainnya (100 µg/mL, 200 µg/mL) yaitu 23,88 % dan 32,64 %. Nilai IC₅₀ ekstrak *Capsicum annuum* terhadap HeLa *cell lines* yang didapatkan yaitu 1,098 µg/mL. Penelitian ini membuktikan bahwa pemberian ekstrak *Capsicum annuum* secara perlahan mengurangi pertumbuhan HeLa *cell lines* sesuai dengan penambahan konsentrasi yang diberikan. Hasil dari nilai IC₅₀ yang didapatkan tidak mencapai kematian atau penghambatan HeLa *cell lines* 50 %. Sementara itu hasil dari kontrol positif yang menggunakan cisplatin menunjukkan hasil yang berbeda secara nyata dibandingkan dengan pemberian ekstrak *Capsicum annuum*. Penghambatan pertumbuhan HeLa *cell lines* yang diberikan cisplatin hasil tertinggi ditemukan pada konsentrasi 400 µg/mL dengan nilai hambatan sebesar 93,87 %. Sementara itu, penghambatan pertumbuhan HeLa *cell lines* terendah ditemukan pada konsentrasi 50 µg/mL dengan nilai hambatan sebesar 52,84 %. Nilai sitotoksitas dalam menghambat pertumbuhan sel dari dua konsentrasi lainnya (100 µg/mL dan 200 µg/mL) yaitu 80,56 % dan 93,87 %. Nilai IC₅₀ cisplatin terhadap HeLa *cell lines* yang didapatkan yaitu 28,78 µg/mL. Data dari rerata kematian HeLa *cell lines* dapat dilihat pada **Tabel 1** dan **Gambar 1**.

4. Pembahasan

Kanker merupakan salah satu penyakit yang baru banyak diketahui setelah memasuki stadium tiga atau empat, karena deteksi penyakit kanker sejak dini masih jarang dilakukan oleh masyarakat. Kanker jika tidak ditangani dengan segera akan menyebar dan tumbuh secara abnormal di dalam tubuh serta dapat merusak sel normal dan jaringan yang ada disekitarnya^[10]. Penelitian ini menggunakan HeLa *cell lines* sebagai salah satu lini sel kanker serviks. Pada penelitian terdahulu menyebutkan

Tabel 1. Nilai IC_{50} dari ekstrak *Capsicum annuum* dan cisplatin pada HeLa cell lines.

Sediaan	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Rata-rata (%) sel mati	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
Ekstrak <i>Capsicum annuum</i>	50	17,98	1,098
	100	23,88	
	200	32,64	
	400	45,62	
Cisplatin	50	52,84	28,78
	100	69,66	
	200	80,56	
	400	93,87	

**Gambar 1.** Grafik mortalitas cell line HeLa yang diberi perlakuan dengan *Capsicum annuum* dengan kontrol positif menggunakan cisplatin

bahwa potensi *Capsicum annuum* sebagai antikanker memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan sel T47D dan menginduksi apoptosis melalui ekspresi caspase-3^[8]. *Capsicum annuum* juga dilaporkan dapat membunuh beberapa sel kanker diantaranya adalah A375, PC-3, MCF7, PANC1, MDA-MB-231, WiDr^{[11][12][13]}.

Pada penelitian ini, ekstrak *Capsicum annuum* dapat menghambat pertumbuhan HeLa cell lines, namun hasil persentase dari penghambatan pertumbuhan HeLa cell line berdasarkan pada **Tabel 1** dan **Gambar 1**, nilai persentasenya tidak sebesar jika dibandingkan ekstrak *Capsicum annuum* diberikan ke sel lain dari data penelitian yang sudah dilakukan. Hal ini menunjukkan adanya kecenderungan resistensi HeLa cell lines terhadap senyawa dari *Capsicum annuum*. Faktor lain yang berpengaruh adalah selektivitas *Capsicum annuum*

terhadap sel yang digunakan. Efek penghambatan pertumbuhan dan kematian HeLa cell lines yang masih teramati dikaitkan dengan adanya aktivitas dari beberapa senyawa seperti flavonoid, fenol, dan capsaicin^[12]. Hal ini bisa dikaitkan juga pada penelitian terdahulu yang menunjukkan bahwa salah satu tanaman herbal yakni ekstrak *Allium cepa* tidak poten diberikan pada WiDr cell lines, namun bersifat poten jika diberikan ke cell lines lainnya^[9].

Berdasarkan kategori dalam senyawa sitotoksik menurut U.S National Cancer Institute terdiri atas empat kategori yaitu kategori sangat toksik jika nilai $IC_{50} \leq 20 \mu\text{g/mL}$, kategori sitotoksik moderat atau cukup aktif jika nilai IC_{50} masuk dalam range 21-200 $\mu\text{g/mL}$, kategori sitotoksik lemah jika nilai IC_{50} masuk dalam range 201-500 $\mu\text{g/mL}$ dan jika nilai $IC_{50} \geq 500 \mu\text{g/mL}$ termasuk kategori tidak toksik^[14]. Dengan kata lain semakin kecil nilai

IC₅₀ yang dihasilkan suatu senyawa maka semakin besar aktivitas sitotoksiknya. Hasil penelitian ini, ekstrak *Capsicum annuum* memperlihatkan hasil nilai IC₅₀ yang tinggi, sebesar 1,098 µg/mL yang artinya bahwa sediaan tersebut tidak lagi efektif sebagai kandidat antikanker untuk Hela *cell lines*. Hasil penelitian sebelumnya juga menyatakan bahwa ekstrak cabe merah keriting mempunyai aktivitas sitotoksik pada sel kanker MCF-7 yang bergantung pada dosis namun dengan efek yang minimal^{[8][16]}. Hal ini mengindikasikan untuk mengevaluasi kembali konsentrasi yang diberikan untuk HeLa cell lines, namun penelitian akan lebih efektif jika langsung menggunakan senyawa aktif dari *Capsicum annuum* seperti capsaicin, fenol, dan flavonoid. Baru-baru ini telah dibuktikan bahwa capsaicin menginduksi apoptosis pada banyak jenis sel kanker, termasuk adenokarsinoma usus besar, kanker pankreas, karsinoma hepatoseluler, kanker prostat, kanker payudara, dan banyak lainnya, sehingga sel-sel normal tidak terluka^{[15][17]}. Kandungan fenol sebagai anti karsinogenik juga dapat menginduksi *cell cycle arrest* dengan cara menghambat pada jalur pensinyalan *cascade* sehingga sel kanker berhenti untuk berproliferasi. Kandungan flavonoid dilaporkan dapat bekerja sebagai antiproliferatif sel kanker dan menginduksi apoptosis yang mengakibatkan kematian pada sel kanker^{[18][19]}.

5. Simpulan

Berdasarkan hasil evaluasi penelitian ini, ekstrak *Capsicum annuum* tidak berpotensi sebagai kandidat antikanker untuk cell line HeLa dengan nilai IC₅₀ sebesar 1,098 µg/mL. Pengaplikasian ekstrak *Capsicum annuum* memerlukan beberapa modifikasi atau cara lain untuk memaksimalkan manfaatnya sebagai salah satu agen kemoterapi di masa depan. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mendapatkan dosis ekstrak *Capsicum annuum* yang tepat dapat menghambat pertumbuhan cell line HeLa.

Daftar Rujukan

- [1] Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R.L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray F. 2020. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: Cancer Journal for Clinicians*, 71(3): 209-249.
- [2] Kementerian Kesehatan RI. 2022. Buku Pelaksanaan Hari Kanker Sedunia: situasi penyakit kanker. Jakarta.
- [3] Ali AB, Razali NH, Suk Xian N, & Yong Sung C. 2021. The use of herbal therapy to improve the quality of life among cancer patients in the Southern Region of Peninsular Malaysia. *Asian*

- Pacific Journal Cancer Prevention*, 22(6): 1857-1863.
- [4] Fathima, S.N. 2015. A systematic review on phytochemistry and pharmacological activities of *Capsicum annuum*. *International Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Research*, 4(3):51-68.
- [5] Bhalabhai, J.G., Rajhans, S., Pandya, H., & Mankad, A. 2021. A comprehensive review on *Capsicum* spp. *International Journal of Research and Analytical Reviews*, 8(4):581-599.
- [6] Juhariah, J., & Aulia, M.P. 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.
- [7] Adetunji, T.L., Olawale, F., Olisah, C., Adetunji, A.E., & Aremu, A.O. 2022. Capsaicin: a two-decade systematic review of global research output and recent advances against human cancer. *Frontier Oncology*, 12: 908487.
- [8] 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):3389-2.
- [9] Fadholly, A., Ansori, A.N.M., Jayanti, S., Proboningrat, A., Kusala, M.K.J., Putri, N., Rantam, F.A., & Sudjarwo, S.A. 2019. Cytotoxic of *Allium cepa* L. on human colon cancer (WiDr) cells: in vitro study. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 12(7): 3483-3486.
- [10] Martinez, Z.M.L., Mendoza, L.C.M., Salazar, T.J., Carrancá, G.A.M., Cervantes, C.M.A., Alcántara-Quintana, L.E. 2022. Establishment, authenticity, and characterization of cervical cancer cell lines. *Molecular and Cellular Oncology*, 9(1):2078628.
- [11] Chilczuk, B., Marciniak, B., Stochmal, A., Pecio, L., Kontek, R., Jackowska, I., & Materska, M. 2020. Anticancer potential and capsinosides identification in lipophilic fraction of sweet pepper (*Capsicum annuum*). *Molecules*, 25(13):3097.
- [12] Al-Samydai, A., Khalilbustanji, Y., Azzam, H., Al-Mamoori, F., Al-Tawalbe, D.M., Abu-Irmaileh, B., & Aburjai, T. 2021. Promising cytotoxicity and anticancer activity of *Capsicum annuum*. *Indian Journal of Forensic Medicine & Toxicology*, 15(3):1766-1775.
- [13] Fadholly, A., Sudjarwo, S.A., Rantam, F.A., Mustika, A.A., Andriyanto., Pristihadi, D.N., & Sutardi, L.N. 2023. Uji toksisitas cabai merah keriting (*Capsicum annuum*) pada sel WiDr secara in vitro. *Current Biomedicine*, 1(2): 70-75.
- [14] More, G.K., Chokwe, C.R., Meddows-Taylor, S. 2021. The attenuation of antibiotic resistant non-albicans *Candida* species, cytotoxicity, anti-inflammatory effects and phytochemical profiles of five *Vachellia* species by FTIR and UHPLC-Q/Orbitrap/MS. *Heliyon*, v7(11):e08425.
- [15] Chapa-Oliver, A.M., & Mejía-Teniente, L. 2016. Capsaicin: From Plants to a Cancer-Suppressing Agent. *Molecules*, 21(8):931.
- [16] Habli, Z., Toumieh, G., Faffat, M., Rahal, O.N., & Gali-Muhtasib, H. 2017. Emerging cytotoxic alkaloids in the battle against cancer: overview of molecular mechanism. *Molecules*, 22(2):250.
- [17] Gong, X., Smith, J.R., Swanson, H.M., & Rubin, L.P. 2018. Carotenoid lutein selectively inhibits breast cancer cell growth and potentiates the effect of chemotherapeutic agents through ROS-mediated mechanisms. *Molecules*, 23(4):905.
- [18] Maji, A.K., & Benerji, P. 2016. Phytochemistry and gastrointestinal benefits of the medicine spice, *Capsicum annuum* L. (Chili): a review. *J. Complement Integr. Med.* 13(2):97-122.
- [19] Fathima, S.N. 2015. A systematic review on phytochemistry and pharmacological activities of *Capsicum annuum*. *International Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Research*, 4(3):51-68.