

ANTICANCER ACTIVITY OF CURCUMINOIDS AGAINST B16-F10 MELANOMA CELL LINES

Sandra Amalia Riyadi^{1*}, Fajar Fauzi Abdullah², Fitri Fadhilah³, Nurul Assidiqiah¹

¹Program Studi Kimia Sekolah Tinggi Analisis Bakti Asih Bandung
Jl. Padasuka Atas No 233 Padasuka, Kecamatan Cimenyan, Kabupaten Bandung, Jawa Barat 40192 Indonesia

²Program Studi Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Garut, Jl. Jati No. 42B, Kecamatan Tarogong Kaler, Kabupaten Garut, Jawa Barat 44151 Indonesia

³Program Studi Analisis Kesehatan Sekolah Tinggi Analisis Bakti Asih Bandung Jl. Padasuka Atas No 233 Padasuka, Kecamatan Cimenyan, Kabupaten Bandung, Jawa Barat 40192 Indonesia

*Corresponding author: Sandra Amalia Riyadi (sandraamalia@staba.ac.id)

ARTICLE HISTORY

Received: 22 November 2021

Revised: 14 July 2022

Accepted: 27 July 2022

Abstract

Curcuminoids are the active ingredient of the *Curcuma Longa* plant consist of three components namely curcumin, demethoxycurcumin, and bisdemethoxycurcumin. The three of component significantly different on methoxy substituent, and capable of giving various biological activities. Curcumin in recent years has become one of the targets of research development as an anticancer agent carried out on several cancer cells. However, the ability of curcumin as an anticancer is very limited due to the low solubility of curcumin in water which affects the low absorption of curcumin compound by cells in the human body. Therefore, it is very necessary to do further research to evaluate the anticancer activity of other curcumin compounds demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin. Dried *Curcuma* rhizome maseration at room temperature for 3x24 hours then collect filtrate and evaporate with rotary evaporator to obtain ethanolic extract of *Curcuma*. Ethanol extract was partitioned with n-hexane, ethyl acetate and n-butanol. Ethyl acetate fraction was evaporated and separated with various isolation method. Furthermore, characterized compounds were tested anticancer activity through B16-F10 cell lines with resazurine reduction method. The result of the anticancer activity of three compounds shows significant inhibition activity, bisdemethoxycurcumin has higher IC₅₀ value 16.20 µg/mL then followed by demethoxycurcumin with IC₅₀ value 22.59 µg/mL and the lowest IC₅₀ value 152.71 µg/mL comes from curcumin.

Key words: anticancer, bisdemethoxycurcumin, curcumin, demethoxycurcumin

AKTIVITAS ANTIKANKER KURKUMINOID TERHADAP SEL MELANOMA B16-F10

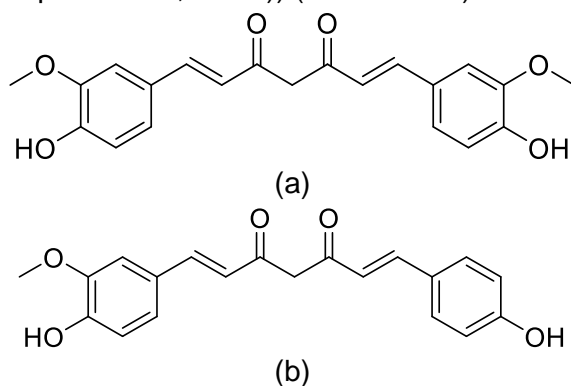
Abstrak

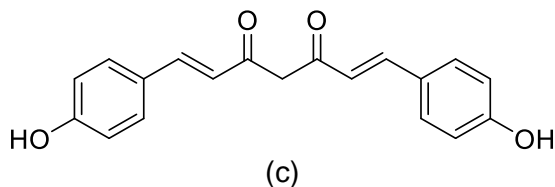
Kurkuminoid berasal dari rimpang kunyit (*Curcuma Longa L.*) yang memiliki ketiga komponen utama penyusunnya diantaranya kurkumin, demetoksikurkumin dan bisdemetoksikurkumin. Secara struktur ketiganya hanya berbeda pada substituen gugus metoksi, namun mampu memberikan efek biologis yang berbeda. Kurkumin dalam beberapa tahun kebelakang menjadi salah satu target pengembangan penelitian sebagai agen antikanker yang dilakukan terhadap beberapa sel kanker. Namun, kemampuan kurkumin sebagai antikanker menjadi sangat terbatas akibat rendahnya kelarutan kurkumin dalam air, yang mempengaruhi rendahnya penyerapan senyawa kurkumin oleh sel dalam tubuh. Maka dari itu menjadi sangat perlu dilakukannya penelitian lebih lanjut untuk melihat aktivitas antikanker dari senyawa kurkumin lainnya yaitu demetoksikurkumin dan bisdemetoksikurkumin. Rimpang kunyit yang telah dikeringkan kemudian dimaserasi dengan etanol selama 3x24 jam kemudian maserat yang diperoleh diuapkan dengan *rotary evaporator* sehingga didapatkan ekstrak pekat etanol. Selanjutnya dilakukan partisi dengan pelarut *n*-heksan, etil asetat, dan *n*-butanol. Fraksi etil asetat kemudian dipekatkan dan dilakukan berbagai jenis metode pemisahan sehingga didapatkan ketiga senyawa kurkuminoid. Selanjutnya, isolat yang sudah terkarakterisasi di lakukan uji sitotoksik terhadap sel B16-F10 dengan menggunakan metode reduksi resazurin. Hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan aktivitas penghambatan yang signifikan diantara ketiga isolat. Bisdemetoksikurkumin memiliki aktivitas penghambatan tertinggi dengan nilai IC_{50} 16,20 $\mu\text{g/mL}$. Setelah itu, demetoksikurkumin dengan nilai IC_{50} 22,59 $\mu\text{g/mL}$ dan yang terakhir adalah kurkumin dengan nilai IC_{50} 152,71 $\mu\text{g/mL}$.

Kata kunci: antikanker, bisdemetoksikurkumin, demetoksikurkumin, kurkumin

Pendahuluan

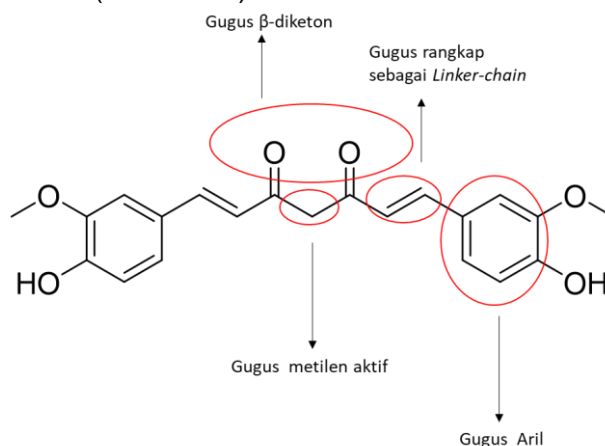
Kurkuminoid merupakan komponen aktif dari kunyit (*Curcuma longa L.*) yang berperan sebagai pemberi warna kuning. Kurkuminoid terdiri atas tiga kandungan senyawa aktif diantaranya kurkumin (1,7-bis(4-hidroksi-3-metoksifenil)-1,6-heptadiena-3,5-dion) (**Gambar 1.a**), demetoksikumin (1-(4-hidroksi-3-metoksifenil)-7-(4-hidroksifenil)-1,6-heptadiena-3,5-dion) (**Gambar 1.b**), dan bisdemetoksikurkumin (1,7-bis(4-hidroksifenil)-1,6-heptadiena-3,5-dion) (**Gambar 1.c**).¹





Gambar 1. Struktur kurkumin (a), demetoksikurkumin (b), dan bisdemetoksikurkumin (c).²

Perbedaan struktur dari ketiga senyawa kurkumin ini sangat berpengaruh terhadap aktivitas biologis diantaranya aktivitas antitumor, antikanker, antioksidan dan antiinflamasi.³ Adanya rantai aril yang terikat dengan suatu gugus fungsi diketo, dua gugus rangkap dan satu gugus metilen yang aktif merupakan dugaan sisi aktif dari ketiga senyawa kurkumin tersebut (**Gambar 2**).⁴



Gambar 2. Sisi aktif dari struktur senyawa kurkumin.⁴

Kurkumin merupakan senyawa yang sudah banyak diteliti, dan telah diketahui potensinya sebagai antikanker dan antitumor selama beberapa tahun terakhir.^{5,6} Secara struktur kurkumin memiliki dua cincin fenil yang tersubstitusi oleh gugus fungsi hidroksil dan metoksi yang dihubungkan oleh 7 karbon keto-enol *linker*, dari studi hubungan struktur dan aktivitas dinyatakan bahwa adanya donor elektron dari hidrogen koplanar dan satu bagian dari β -diketon sangat mempengaruhi terhadap aktivitas antiandrogenik sebagai *treatment* pengobatan kanker prostat.⁷ Penelitian yang lain dijelaskan bahwa penambahan kurkumin terhadap terhadap sel MCF-7 dapat menurunkan viabilitas sel dan ekspresi m-RNA, P-gp dan BCRP, dibandingkan dengan tidak ditambahkan kurkumin. Dengan begitu kurkumin dapat meningkatkan sensitivitas sel terhadap tamoksifen.⁸ Pada beberapa studi lainnya, kurkumin memiliki keterbatasan dalam penggunaan sebagai obat diantaranya rendahnya kelarutan kurkumin dalam air serta rendahnya daya serap terhadap sel.⁴ Quitschke *et al* pada penelitiannya memperlihatkan demetoksikurkumin lebih stabil didalam darah jika dibandingkan dengan kurkumin. Pada penelitian yang dilaporkan oleh Chen *et al* diketahui bahwa demetoksikurkumin yang dikombinasikan dengan cisplatin secara signifikan mampu melemahkan proliferasi sel A549 yang menunjukkan aktivitas yang lebih baik dari modifikasi kurkumin-cisplatin dan bisdemetoksi-cisplatin.^{11,12} Gupta *et al* dalam artikelnya menyatakan bahwa bisdemetoksikurkumin lebih aktif sifat sitotoksitasnya dari demetoksikurkumin dan kurkumin terhadap sel kanker ovarium, serta melindungi saraf dan endotel sel dari beta-amyloid-induced stres oksidatif yang menyebabkan Induksi yang dimediasi oleh NRF2 heme oxygenase-1.⁹ Meskipun kurkumin, demetoksikurkumin, dan bisdemetoksikurkumin berbeda dalam struktur kimianya dan hanya berkaitan dengan

substitusi metoksi, ketiga senyawa tersebut menunjukkan perbedaan yang signifikan pada aktivitas antitumor dan antiinflamasi yang dipengaruhi oleh substituen metoksi yang terlibat dalam aktivitas ini. Penelitian telah menunjukkan bahwa ikatan hidrogen antara gugus -OH fenolik dan gugus metoksi dalam kurkumin mempengaruhi energi ikatan O – H dan abstraksi atom hidrogen oleh radikal bebas, yang menunjukkan efek pembersihan radikal bebas yang lebih baik dari bisdemetoksikurkumin.¹³ Penggunaan ketiga senyawa kurkumin menjadi salah satu alternatif pengobatan kanker serviks yang telah dilaporkan dari beberapa penelitian, salah satunya oleh Riki et al yang melakukan pengujian sitotoksik senyawa kurkumin, demetoksikurkumin, dan bisdemetoksikurkumin tanaman temulawak terhadap lini sel kanker serviks.¹⁰ Dari hasil penelitiannya, diketahui bahwa nanopartikel ekstrak senyawa kurkumin tersebut dapat menghambat pertumbuhan sel HeLa dengan konsentrasi sebesar 2 dan 62,5 ppm.

Beberapa studi telah dilakukan dan fokus kepada modifikasi struktur kurkumin dengan tujuan untuk meningkatkan aktivitas biologis dari senyawa kurkumin dan pencarian aktivitas biologis yang lebih spesifik terhadap sel kanker lainnya.¹⁴ Pencarian aktivitas biologis lainnya dari senyawa kurkuminoid sangat diperlukan mengingat senyawa kurkuminoid memiliki aktivitas sitotoksik yang sangat baik, tidak beracun, serta merupakan senyawa aktif komponen utama yang berasal dari bahan alam yaitu kunyit sehingga aman untuk dikonsumsi secara teratur.¹⁵ Sampai saat ini belum adanya penelitian yang mengkaji bagaimana aktivitas senyawa kurkuminoid terhadap sel kanker kulit melanoma B16-F10 membuat peneliti ingin mengkaji aktivitas sitotoksik senyawa kurkuminoid secara *in vitro* dengan metode reduksi resazurin.

Melanoma metastasis merupakan jenis kanker kulit yang paling berbahaya dan mampu berkembang cepat menyebar ke bagian tubuh lainnya.^{17,18} Beberapa penelitian telah mengkaji senyawa bahan alam yang memiliki aktivitas penghambatan terhadap sel kanker kulit melanoma B16-F10 diantaranya penelitian yang dilakukan oleh Palomeque et al bahwa ekstrak metanol tanaman *C. aequipetala* mampu menginduksi sel pada G1 siklus sel serta mampu menginduksi fragmentasi DNA dan meningkatkan aktivitas *caspase-3*.¹⁶ Pada penelitian lainnya suatu senyawa *nanomicellar*-kurkumin secara *in vitro* mampu menghambat sel kanker melanoma B16-F10, serta ekstrak etanol tanaman *A. nallamalayana* diketahui mampu mereduksi viabilitas sel kanker kulit manusia A357 serta sel kanker kulit metastasis B16-F10.^{19,20} Pada penelitian ini akan mengkaji aktivitas penghambatan dari senyawa kurkumin, demetoksi kurkumin dan bisdemetoksikurkumin terhadap sel kanker kulit melanoma B16-F10 yang dinyatakan dalam 50% kemampuan penghambatan sel secara *in vitro*. Sehingga mampu menjadi dasar penelitian selanjutnya untuk mempelajari pengaruh penghambatan terhadap sel kanker kulit melanoma B16-F10 secara *in vivo*.

Metode

Alat

Neraca digital, CO₂ *Incubator* (Thermo Scientific), *Biological Safety Cabinet* (BSC), *centrifuge*, mikroskop, *hemocytometer*, *Multimode Reader*, *Rotary evaporator* (Buchi), Kolom Kromatografi, Spektrofotometer UV-VIS (Shimadzu 1800), FTIR (Thermo Fischer).

Bahan

Rimpang Kunyit 10 Kg, *Biologix 1.5 ml Conical Bottom Autoclavable DNA & RNA Free Micro Centrifuge Tubes*, *Falcon™ 50 mL Conical Centrifuge Tubes*, *Multi well Culture Plate 96 well Microplate Sterile Biologix*, *Gibco™ RPMI 1640 Medium*, *Gibco™ PBS buffers*, *Trypsin-EDTA solution Sigma-Aldrich*, *Ethanol Absolute for Analysis Merck 2.5 L*, *Trypan blue (C.I. 23850) Merck*, *Cisplatin Dankos*, *B16-F10 (ATCC® CRL-6475™)*

Cell, dan *Invitrogen™ PrestoBlue™ Cell Viability Reagent*. Etil Asetat (Merck), n-Heksana (Merk), n-Butanol (Merck), Plat Kromatografi Lapis Tipis Silika Gel F 254 (Merck), Silica Gel 60 (Merck), Kloroform (Merck), Etanol (Merck).

Prosedur

- a. Preparasi Sampel
Rimpang kunyit basah yang didapatkan dari Pasar Ujung Berung Bandung sebanyak 10 Kg, dikeringkan dengan oven selama 2 jam pada suhu 50-60 °C kemudian dihancurkan sehingga didapatkan serbuk rimpang kunyit kering sebanyak 5,1 Kg.
- b. Maserasi dan Partisi Sampel
Rimpang kunyit kering 5,1 Kg kemudian ditambahkan etanol 70% dan dimaserasi selama 3x24 jam. Filtrat kemudian disaring dan dikumpulkan lalu dipekatkan dengan *rotary evaporator* sampai didapatkan ekstrak pekat etanol kunyit. Ekstrak pekat etanol kunyit yang telah didapatkan kemudian ditambahkan air: etanol (9:1) yang kemudian dipartisi dengan berbagai pelarut berdasarkan kepolaran yaitu *n*-heksan, etil asetat, dan *n*-butanol.
- c. Isolasi Kurkuminoid
Ekstrak pekat etil asetat yang didapatkan kemudian di analisis pola noda dengan menggunakan plat KLT, dan dipisahkan dengan kromatografi kolom menggunakan fase gerak campuran pelarut kloroform: metanol (95:5) dan fase diam silika secara isokratis.
- d. Karakterisasi Isolat
Isolat yang didapatkan kemudian dianalisis dengan KLT menggunakan sprayer H₂SO₄ 10% dalam etanol, sehingga muncul noda berwarna kuning. Pola noda akan muncul dengan nilai *R_f* yang berbeda.
- e. Aktivitas Antikanker
Penentuan aktivitas antikanker dilakukan dengan metode reduksi resazurin.²¹ Sampel dibuat stok sampel sebesar 2000.00 µg/ml menggunakan pelarut etanol 2% kemudian siapkan 8 *microtube* 1,5 mL, yang kemudian dibuat 8 variasi konsentrasi dari 1000 - 7,81 µg/ml. Disiapkan kontrol positif, Cisplatin 1,59 µg/ml (nilai IC₅₀ Cisplatin terhadap Sel B16-F10) dan disiapkan kontrol negatif berupa media dan juga kontrol pelarut isolat yaitu etanol. *Well plate* yang telah berisi sel dikeluarkan dari inkubator. Diberi label pada *plate*, lalu dibuang media setelah itu ditambahkan 100 µL masing-masing sampel, kontrol positif, kontrol negatif, dan kontrol pelarut diinkubasi kembali selama 48 jam. Kemudian ditentukan nilai % inhibisi setiap konsentrasi:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs Kontrol negatif} - \text{Abs Sampel}}{\text{Abs Kontrol negatif}} \times 100 \%$$

Keterangan:

Abs Kontrol Negatif: Absorbansi Media+Sel

Abs Sampel: Absorbansi Sampel

Setelah diketahui nilai % Inhibisi setiap konsentrasi, selanjutnya diolah dengan Microsoft Excel. Kemudian didapatkan grafik linieritas sehingga dipenuhi persamaan.

$$Y = bx + a$$

Keterangan:

Y : Variabel akibat (% Abs)

b : Koefisien regresi/kemiringan

x : Variabel Faktor Akibat (Nilai IC₅₀)

a : Konstanta

Setelah didapatkan kurva dan persamaan regresi linear % Inhibisi, selanjutnya ditentukan absorbansi target nilai IC_{50}

Target $IC_{50} = 50\% \times \text{Abs Kontrol negatif}$

Setelah diketahui absorbansi target nilai IC_{50} , ditentukan % Absorbansi target nilai IC_{50} sebagai konstanta Y dalam persamaan regresi linear.

$$\% \text{ Abs (Y)} = \frac{\text{Abs Kontrol} - \text{Target } IC_{50}}{\text{Abs Control}} \times 100$$

Keterangan:

Abs Kontrol: Absorbansi Kontrol Negatif (Media+sel)

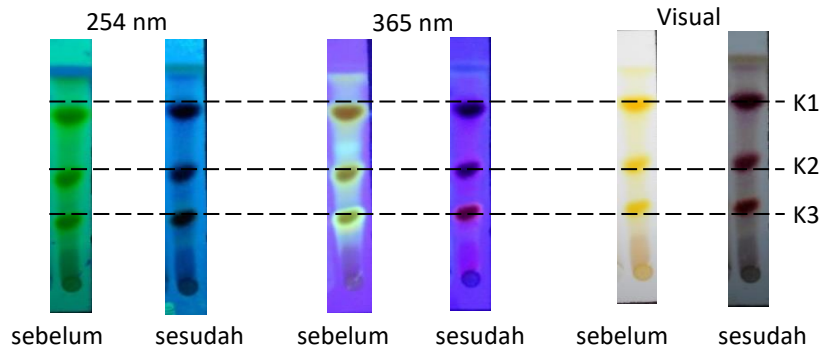
Nilai IC_{50} sebagai konstanta X yang belum diketahui nilainya, dimasukkan ke dalam persamaan regresi linear agar nilainya dapat diketahui

$$\text{Nilai } IC_{50} (X) = \frac{Y-a}{b}$$

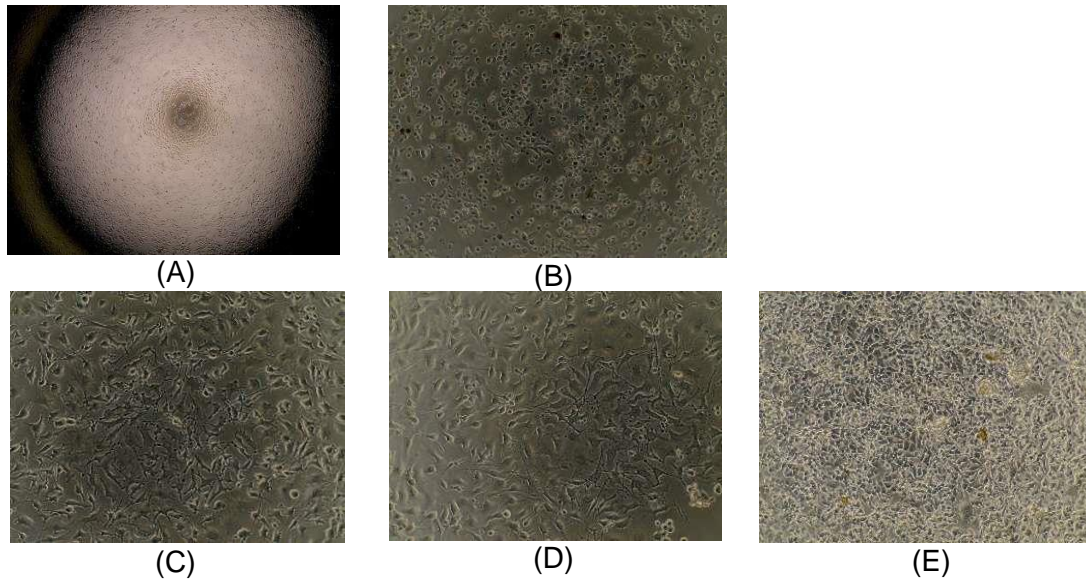
Hasil

Tabel 1. Hasil Karakterisasi Nilai R_f Isolat KLT Silika GF 254 dengan Fase Gerak Kloroform : Metanol (9:1)

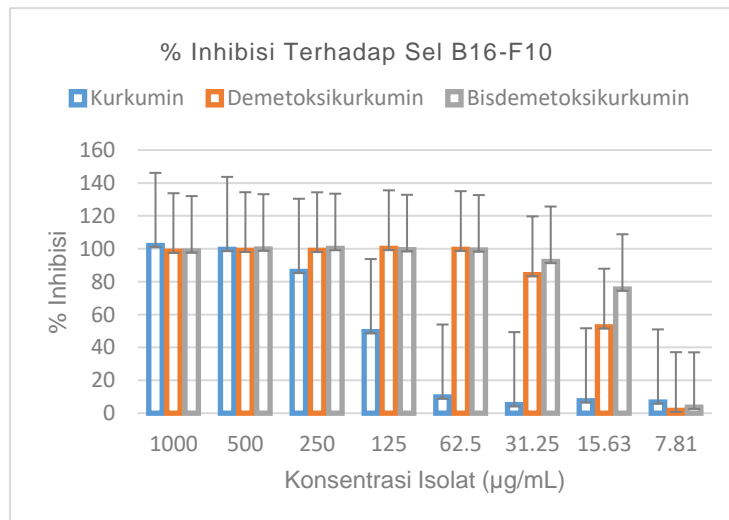
Isolat	Nilai R_f (cm)
K1 (kurkumin)	0,76
K2 (demetoksikurkumin)	0,57
K3 (bisdemetoksikurkumin)	0,26



Gambar 3. Hasil visualisasi UV 254 dan 365 serta sebelum dan sesudah dikarakterisasi oleh H_2SO_4 10% dalam etanol



Gambar 4. Gambaran lini sel B16-F10 sebelum diberikan perlakuan (A), setelah diberikan kontrol cisplatin 1,59 µg/ml (B), setelah diberikan kurkumin 7,81 µg/mL (C), setelah diberikan demetoksikurkumin 7,81 µg/mL (D), dan diberikan isolat bisdemetoksikurkumin 7,81 µg/mL (E).



Gambar 5. Pengaruh perlakuan isolat kurkuminoid terhadap sel B16-F10 dengan variasi konsentrasi isolat 1000; 500; 250; 125; 62,50; 31,25; 15,63 dan 7,81 µg/ml dalam etanol terhadap kontrol cisplatin 1,59 µg/ml, kontrol negatif berupa media dan juga kontrol pelarut isolat yaitu etanol.

Tabel 2. Nilai IC₅₀ isolat kurkumin, demetoksikurkumin, bisdemetoksikurkumin terhadap kontrol cisplatin 1,59 µg/ml.

Isolat	Nilai IC ₅₀ (µg/ml)	SD*
Kurkumin	152,71	1,65
Demetoksikurkumin	22,59	1,90
Bisdemetoksikurkumin	16,20	5,16

*n = 5

Pembahasan

Kurkuminoid merupakan kandungan utama kunyit yang memiliki komponen utama diantaranya kurkumin 1,7-bis(4-hidroksi-3-metoksifenil)-1,6-heptadiena-3,5-dion, demetoksikurkumin 1-(4-hidroksi-3-metoksifenil)-7-(4-hidroksifenil)-1,6-heptadiena-3,5-dion, dan bisdemetoksikurkumin 1,7-bis(4-hidroksifenil)-1,6-heptadiena-3,5-dion. Isolat yang dihasilkan dikarakterisasi kualitatif dengan KLT menggunakan fase diam silika gel yang bersifat polar dan fase gerak kloroform:metanol (dengan perbandingan 9:1). Berdasarkan **Gambar 3**, ketiga isolat menunjukkan adanya perbedaan migrasi yang dapat dilihat pada nilai *Rf* K3 0.26, *Rf* K2 0.57, dan *Rf* K1 0.76 yang dikarakterisasi sebagai bisdemetoksikurkumin, demetoksikurkumin, dan kurkumin. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Revathy *et al.*, tahun 2011 yang melakukan uji KLT isolat murni dari kurkuminoid yaitu kurkumin, demetoksikurkumin, dan bisdemetoksikurkumin dengan nilai *Rf* setiap senyawa secara berurutan yaitu 0.75, 0.55, dan 0.27.²² Kurkumin memiliki 2 gugus metoksi, demetoksikurkumin 1 gugus metoksi, sedangkan bisdemetoksikurkumin tidak memiliki gugus metoksi. Akibatnya kepolaran bisdemetoksikurkumin menjadi lebih tinggi (rendahnya nilai *Rf*) karena tidak adanya gugus metoksi.²³ Sehingga bisa disimpulkan bahwa kurkumin bersifat nonpolar, demetoksikurkumin bersifat semi polar, dan bisdemetoksikurkumin bersifat polar.

Pengujian aktivitas antikanker yang dilakukan berguna untuk mengetahui potensi antikanker dari ketiga struktur kurkuminoid yaitu kurkumin, demetoksikurkumin, dan bisdemetoksikurkumin dalam menghambat suatu proliferasi sel B16-F10 dengan berbagai variasi konsentrasi. Pemilihan konsentrasi isolat berdasarkan pada Metode Serial Dilusi, seperti penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Diani *et al.*, tahun 2015.²⁴ Serial dilusi merupakan sebuah metode pengenceran bertahap dari suatu zat dalam larutan dengan perbandingan pengenceran 1:2 (w/v). Perbandingan yang digunakan pada pengujian antikanker ini adalah cisplatin dengan konsentrasi 1,59 µg/ml (nilai IC₅₀ cisplatin terhadap sel B16-F10). Cisplatin merupakan suatu obat kemoterapi yang sudah lama diketahui. Cisplatin bekerja sebagai anti kanker dengan cara mengikat guanin yang merupakan salah satu penyusun DNA sel dan melakukan apoptosis pada sel yang sehat maupun sel kanker itu sendiri.²⁵ Cisplatin sebagai kontrol positif digunakan untuk mengetahui nilai IC₅₀ terhadap proliferasi sel B16-F10.

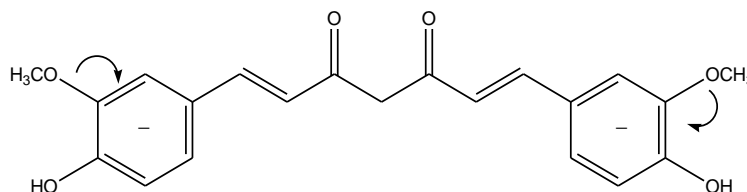
Preparasi sel dilakukan melalui beberapa tahapan seperti menghidupkan kembali sel yang sebelumnya ditidurkan kemudian ditumbuhkan hingga mencapai konfluen 70-80%. **Gambar 4** merupakan morfologi sel dari morfologi sel B16-F10 yang sudah diberi perlakuan, sel B16-F10 merupakan sel adeherent yang dapat diamati pada permukaan media tumbuh. Jika sel mati maka akan terlihat terlepas dari permukaan media tumbuhnya, terdegradasi dan tidak saling menempel. Berdasarkan **Gambar 4** terlihat sel yang mati pada konsentrasi 7,81 µg/mL, dengan perbesaran yang sama yang merupakan morfologi sel setelah diberi perlakuan kontrol positif, dapat dilihat secara visual bahwa aktivitas senyawa demetoksikurkumin dan bisdemetoksikurkumin memiliki aktivitas yang lebih baik dibandingkan dengan cisplatin.

Pada uji sitotoksik dengan metode reduksi resazurin, tingkat kematian sel B16-F10 akibat perlakuan sampel dapat diketahui secara kalorimetri berdasarkan nilai absorbansi yang diperoleh. Hal ini dapat dilihat secara visual dari perubahan warna yang terjadi. Sel yang masih hidup akan mereduksi resazurin menjadi resofurin yang memberi pewarnaan merah muda dan berpendar. Semakin kecil konsentrasi senyawa uji yang diberikan pada suspensi sel, menyebabkan warna larutan semakin berwarna merah muda dan berpendar, hal ini dapat diamati dari semakin besar nilai absorbansi yang diperoleh, yang berarti semakin banyak sel yang hidup. Pada **Gambar 5** semakin tinggi konsentrasi sampel maka semakin rendah absorbansinya sehingga semakin tinggi % inhibisinya.

Berdasarkan **tabel 2** dapat diketahui nilai IC_{50} dari setiap isolat murni kurkumin, demetoksikurkumin, dan bisdemetoksikurkumin secara berurutan yaitu 152,71 $\mu\text{g/ml}$, 22,59 $\mu\text{g/ml}$, dan 16,20 $\mu\text{g/ml}$. Nilai IC_{50} merupakan nilai konsentrasi yang menghasilkan hambatan proliferasi sel sebesar 50 % dari total populasi sel. Sebagai contoh nilai IC_{50} kurkumin sebesar 152,71 $\mu\text{g/mL}$ memiliki arti bahwa pada konsentrasi 152,71 $\mu\text{g/mL}$ dapat menghambat 50% dari total populasi sel B16-F10 yang hidup dan berjumlah kurang lebih 12.000 sel. Jika dilihat secara visual, warna larutan yang terjadi adalah warna ungu, artinya hanya 50% sel hidup yang mereduksi resazurin menjadi resofurin. Semakin kecil nilai IC_{50} semakin tinggi aktivitas penghambatan senyawa uji tersebut. Suatu bahan uji memiliki aktivitas biologis apabila memiliki aktivitas sitotoksik dengan nilai $IC_{50} < 30 \mu\text{g/mL}$. Berdasarkan hasil penelitian, dapat diketahui bahwa demetoksikurkumin dan bisdemetoksikurkumin memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan sel kanker kulit melanoma B16-F10. Hal ini terlihat dari nilai konsentrasi IC_{50} kedua isolat tersebut dibawah 100 $\mu\text{g/mL}$.

Sifat kimia dari molekul kurkumin memberikan banyak kesimpulan tentang sifat interaksinya dengan target protein, yang membuat senyawa dapat digunakan sebagai antiinflamasi, antioksidan, antikanker. Gugus diketon kurkumin merupakan gugus yang bertanggung jawab terhadap penekanan aktivitas nuclear factor $\kappa\text{B/NF-}\kappa\text{B}$.²⁶ Secara struktur, karena tiga kurkuminoid memiliki gugus diketon yang serupa, efek toksisitas harus secara teoritis serupa, namun keberadaan gugus metoksi dapat mempengaruhi kerapatan elektron pada gugus diketo. Oleh karena itu, sifat antioksidan ketiga kurkuminoid juga dipengaruhi oleh adanya gugus metoksi. Posisi efek kelompok fungsional dan ikatan juga mempengaruhi perilaku senyawa.⁹

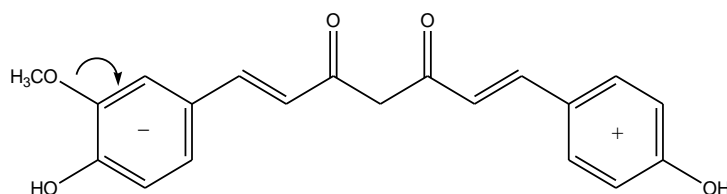
Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, pengaruh substitusi metoksi dapat dilihat dari nilai IC_{50} setiap senyawa, dimana semakin bertambah gugus metoksi maka nilai IC_{50} semakin kecil, hal ini menunjukkan bahwa gugus metoksi memberikan pengaruh dalam menghambat pertumbuhan sel kanker kulit melanoma B16-F10 dan kehilangan gugus metoksi membuat potensinya menjadi meningkat. Diantara ketiga isolat, bisdemetoksikurkumin memiliki aktivitas penghambatan tertinggi dengan nilai IC_{50} 16,20 $\mu\text{g/mL}$. Setelah itu, demetoksikurkumin dengan nilai IC_{50} 22,59 $\mu\text{g/mL}$ dan yang terakhir adalah kurkumin dengan nilai IC_{50} 152,71 $\mu\text{g/mL}$. Apabila dihubungkan antara struktur kimia isolat kurkumin, demetoksikurkumin, dan bisdemetoksikurkumin dengan sifat aktivitas antikankernya terdapat perbedaan aktivitas yang signifikan diantara ketiga senyawa. Senyawa kurkumin memiliki gugus metoksi pada kedua gugus aromatis yaitu kiri dan kanan.



Gambar 6. Struktur kimia kurkumin

Secara teoritis gugus metoksi bersifat sebagai gugus pendorong elektron sehingga dapat menyumbangkan elektron pada cincin aromatis. Adanya resonansi pada cincin aromatis membuat dorongan elektron dari metoksi akan meningkatkan rapat elektron cincin aromatis (benzena). Hal ini menyebabkan cincin benzena menjadi lebih elektronegatif sehingga atom C karbonil menjadi lebih elektropositif. Oleh karena itu, senyawa kurkumin berinteraksi (daya tarik-menarik) lemah dengan guanin karena molekul guanin bersifat elektronegatif (nukleofilik). Hal ini dapat dibuktikan dari Nilai IC_{50} yang cukup besar yaitu 152,71 $\mu\text{g/ml}$. Karena adanya dua gugus metoksi sifat dari kurkumin adalah nonpolar.

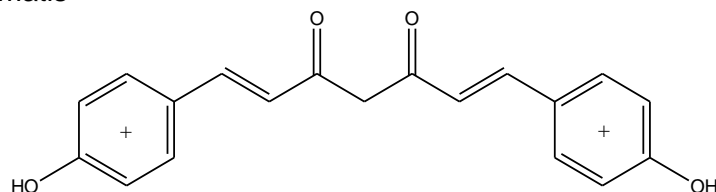
Senyawa demetoksikurkumin mengalami kehilangan satu gugus metoksi tepatnya pada gugus aromatis sebelah kanan



Gambar 7. Struktur kimia demetoksikurkumin

Kehilangan satu gugus metoksi, menyebabkan elektron donor pada cincin aromatis berkurang, akibatnya kerapatan elektron pada cincin aromatis sebelah kanan melemah dan mengakibatkan cincin aromatis menjadi lebih elektropositif. Oleh karena itu interaksi (daya tarik-menarik) senyawa demetoksikurkumin dengan molekul guanin semakin meningkat. Hal ini dapat dibuktikan dari Nilai IC_{50} yang semakin menurun yaitu 22,59 $\mu\text{g/ml}$. Karena kehilangan satu gugus metoksi pada salah satu gugus aromatis, maka demetoksikurkumin bersifat semipolar.

Senyawa bisdemetoksikurkumin mengalami kehilangan kedua gugus metoksi pada kedua gugus aromatis



Gambar 8. Struktur kimia bisdemetoksikurkumin

Kehilangan kedua gugus metoksi, menyebabkan tidak ada sama sekali elektron donor pada cincin aromatis, akibatnya kerapatan elektron pada kedua cincin aromatis melemah dan mengakibatkan kedua cincin aromatis menjadi lebih elektropositif. Oleh karena itu interaksi (daya tarik-menarik) senyawa bisdemetoksikurkumin dengan molekul guanin lebih meningkat daripada senyawa demetoksikurkumin. Hal ini dapat dibuktikan dari Nilai IC_{50} yang semakin menurun yaitu 16,20 $\mu\text{g/ml}$. Karena kehilangan dua gugus metoksi dari kedua gugus aromatis, maka sifat bisdemetoksikurkumin bersifat polar.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian analisis uji sitotoksik isolat kurkumin, demetoksikurkumin, dan Bisdemetoksikurkumin terhadap sel B16-F10 secara *in vitro*, dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan aktivitas sitotoksik yang signifikan

diantara ketiga senyawa murni. Kurkumin dengan nilai IC_{50} 152,71 $\mu\text{g/mL}$, Demetoksikurkumin dengan nilai IC_{50} 22,59 $\mu\text{g/mL}$, dan Bisdemetoksikurkumin dengan nilai IC_{50} 16,20 $\mu\text{g/mL}$. Diantara ketiga senyawa murni, Bisdemetoksikurkumin memiliki aktivitas penghambatan tertinggi dengan nilai IC_{50} 16,20 $\mu\text{g/mL}$.

Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini di danai oleh hibah Penelitian Dosen Pemula dari KEMENDIKBUD-RISTEK pendanaan Tahun 2021.

Daftar Pustaka

1. Parsai S, Keck R, Skrzypczak-Jankun, Ewa Jankun J. Analysis of the anticancer activity of curcuminoids, thiotryptophan and 4-Phenoxyphenol Derivatives. *Oncol Lett.* 2014;7(1):17–22.
2. Yuan Shan C, Iskandar Y. Study kandungan kimia dan aktivitas farmakologi tanaman kunyit (*Curcuma longa* L.). *Farmaka.* 2018;16(2):547–555.
3. Nagahama K, Utsumi T, Kumano T, Maekawa S, Oyama N, Kawakami J. Discovery of a new function of curcumin which enhances its anticancer therapeutic potency. *Sci Rep.* 2016;6(1):1–14.
4. Mbese Z, Khwaza, Vuyolwethu Khwaza Aderibigbe BA. Curcumin and its derivatives as potential therapeutic agents in prostate, colon and breast cancers. *Molecules.* 2019;24(23).
5. Adiwidjaja J, McLachlan AJ, Boddy A V. Curcumin as a clinically-promising anti-cancer agent: pharmacokinetics and drug interactions. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2017;13(9):953–72.
6. Hassanalilou T, Ghavamzadeh S, Khalili L. Curcumin and gastric cancer: a review on mechanisms of action. *J Gastrointest Cancer.* 2019;50(2):185–92.
7. Arwansyah, Arwansyah Ambarsari, Laksmi Sumaryada TI. Simulasi docking senyawa kurkumin dan analognya sebagai inhibitor reseptor androgen pada kanker prostat. *Curr Biochem.* 2014;1(1):11–2.
8. Sianipar EA, Louisa M, Wanandi SI. Kurkumin meningkatkan sensitivitas sel kanker payudara terhadap tamoksifen melalui penghambatan ekspresi P-glikoprotein dan breast cancer resistance protein. *J Farm Galen (Galenika J Pharmacy).* 2018;4(1):1–11.
9. Gupta AP, Khan S, Manzoor MM, Yadav AK, Sharma G, Anand R, et al. Anticancer curcumin: natural analogues and structure-activity relationship. *Stud Nat Prod Chem.* 2017;54(1).
10. Riki, Ambarsari L, Nurcholi W. Potensi antikanker nanopartikel ekstrak kurkuminoid temulawak terhadap sel line kanker serviks. *Indones Nat Res Pharm J.* 2017;2(1):1–10.
11. Quitschke WW. Differential solubility of curcuminoids in serum and albumin solutions: implications for analytical and therapeutic applications. *BMC Biotechnol.* 2008;8:1–17.
12. Chen Y, Hong C, Chen X, Qin Z. Demethoxycurcumin increases the sensitivity of cisplatin-resistant non-small lung cancer cells to cisplatin and induces apoptosis by activating the caspase signaling pathway. *Oncol Lett.* 2020;20(5):1–8.
13. Manami T, Kuroda K, Ramamoorthy, Ayyalusamy Yasuhara K. Modulation of raft domains in a lipid bilayer by boundary-active curcumin. *Chem Commun.* 2014;50(26):3427–30.
14. Zhao S, Chao P, Ye Y, Zhao L, Yumeng W. Recent advances of analogues of curcumin for treatment of cancer. *Eur J Med Chem.* 2019;180(319):524–35.

15. Ding L, Ma SM, Lou H, Sun L, Ji M. Synthesis and biological evaluation of curcumin derivatives with water-soluble groups as potential antitumor agents: an in vitro investigation using tumor cell lines. *Molecules*. 2015;20(12):21501–14.
16. Uscanga A, Benavides, Pablo Zapata- Alonso SS, et al. Inhibitory effect of cuphea aequipetala extracts on murine b16f10 melanoma in vitro and in vivo. *Biomed Res Int*. 2019;
17. Mardani R, Hamblin MR, Taghizadeh M, et al. Nanomicellar-curcumin exerts its therapeutic effects via affecting angiogenesis, apoptosis, and t cells in a mouse model of melanoma lung metastasis. *Pathol Res Pract*. 2020;216(9):153082.
18. ATCC. Product human cell lines [internet]. 2020. Available from: https://www.atcc.org/Products/Cells_and_Microorganisms/Cell_Lines/Human.aspx
19. Tomeh MA, Hadianamrei R, Zhao X. A review of curcumin and its derivatives as anticancer agents. *Int J Mol Sci*. 2019;20(5).
20. Purushotham G, Padma Y, Yusuf N, Raju RRV. In vitro evaluation of anti-proliferative, anti-inflammatory and pro-apoptotic activities of the methanolic extracts of andrographis nallamalayana ellis on a375 and b16f10 melanoma cell lines. *3 Biotech*. 2016;6(2):1–11.
21. Sharma N, Arya G, Kumari R, Gupta N, Nimesh S. Evaluation of anticancer activity of silver nanoparticles on the a549 human lung carcinoma cell lines through alamar blue assay. *Bio-Protocol*. 2019;9(1).
22. Revathy S, Elumalai S, Benny M, Antony B. Isolation , purification and identification of curcuminoids from turmeric (curcuma longa l .) by column chromatography. *J Exp Sci [Internet]*. 2011;2(7):21–25. Available from: jexpscienc.com/article/download/7767/3965
23. Kautsari SN, Purwakusumah ED, Nurcholis W. Profil kromatografi lapis tipis ekstrak kunyit (curcuma longa linn) segar dan simplisia dengan variasi metode ekstraksi. *Media Farm*. 2020;16(1):65.
24. Diani N, Swantara I, Mahardika I. Aktivitas antikanker isolat toksik dari ekstrak metanol spons genus haliclona grant, 1836 terhadap sel hela. *CAKRA Kim (Indonesian E-Journal Appl Chem)*. 2015;3(2):39–44.
25. Dasari S, Tchounwou P. Cisplatin in cancer therapy: molecular mechanisms of action. *Eur J Pharmacol*. 2014;10(5):740:364-78.
26. Eirini C, Litina D. Curcumin analogues and derivatives with anti-proliferative and anti-inflammatory activity: Structural characteristics and molecular targets. *Expert Opin Drug Discov*. 2019;14(8):821–42.