



## Efek kurkumin dan pentagamavunon-0 terhadap viabilitas kultur sel luteal

### *Effect of curcumin and pentagamavunon-0 on the viability of cultured luteal cells*

Endang Purwaningsih

Department of Anatomy (Biology), Faculty of Medicine, YARSI University, Jakarta

**KEYWORDS** *curcumin; curcumin analog; proliferasi; sel luteal*

**ABSTRACT** *The purpose of this study was to investigate the effect of curcumin and pentagamavunon-0 (PGV-0) on the viability of cultured luteal cells (percent of viable cells). The cultured luteal cells were obtained from corpus luteum of induced 12 immature Sprague Dawley rats by a single 10 IU Pregnat Mare's Serum Gonadotropin. Subject in this study was 4 days old corpus luteum which was cultured in Minimal Essential Medium (MEM) containing 10% Fetal Bovine Serum.*

*This experiment consisted of 12 groups, e.g. one group as control (solvent), three groups as control with LH and or PGF2a stimulation, and eight groups treated with 100  $\mu$ M curcumin and PGV-0 in three replicates. Evaluation was conducted after 24 hours of treatment by observation of viable cells with MTT method.*

*The result showed that the viability of cultured luteal cells with curcumin or PGV-0 only was not significantly different compared to control groups. However, curcumin and PGV-0 on cultured luteal cells stimulated by LH and or PGF2a showed significant differences compared to control or LH and PGF2a only.*

Tanaman kurkuma, di antaranya *Curcuma xanthoriza* (temulawak), *Curcuma longa* (kunyit) banyak digunakan dalam obat tradisional Indonesia. Perasan rimpangnya oleh masyarakat digunakan sebagai rempah-rempah untuk obat tradisional dalam bentuk perasan sebagai campuran jamu dan dipercaya dapat menyembuhkan berbagai penyakit antara lain untuk mengatasi gangguan yang timbul pada saat menstruasi, setelah melahirkan, dan untuk mengatur kehamilan (Garg, 1974; Timmerman, 1995).

Senyawa utama yang terkandung dalam rimpang jenis *Curcuma sp* adalah kurkumin. Di dalam *Curcuma longa* kurkumin dijumpai bersama dengan demetoksikurkumin dan bisdemetoksikurkumin. Campuran ketiga senyawa ini disebut *kurkuminoid* (Tonnesen and Karlsen, 1995).

Telah dilakukan modifikasi pada gugus terminal aromatik dan metilen aktif senyawa kurkumin yang menghasilkan salah satu senyawa analog kurkumin yang diberi nama pentagamavunon-0 (PGV-0) (Sardjiman, 2000) Senyawa ini diketahui mempunyai aksi farmakologis sebagai antiinflamasi dengan menghambat biosintesis prostaglandin melalui jalur siklooksigenase (COX) dan sebagai senyawa antioksidan.

Kurkumin sebagai antitumor dan anti karsinogenik dikaitkan dengan kemampuan penghambatan terhadap aktivitas COX-2 dan lipoksigenase secara in

**Correspondence:**

Dr. Endang Purwaningsih, MS,PA., Department of Anatomy (Biology), Faculty of Medicine, YARSI University, Jakarta, Jalan Letjen. Suprpto, Cempaka Putih, Jakarta Pusat 10510, Tel. 021-4206674-76, Faksimile: 021-4243171

*vitro* (Huang *et al.*, 1995). Penghambatan COX-2 akan mencegah peningkatan produksi prostanoïd dan akan mengurangi efek inflamasi. Hal ini akan mencegah proliferasi dan memacu apoptosis pada sel kanker. Akumulasi asam arakhidonat akan mengaktifkan sphingomyelinase yang mengkatalisis pembentukan ceramide dan sphingomyelin yang merupakan upregulasi apoptosis (Meiyanto, 1999).

Sebagai pemacu apoptosis pada sel kanker, kurkumin dapat mengaktifkan caspase 3 pada sel AK-5 (Khar *et al.*, 1999). Pemacuan apoptosis melalui mitokondria oleh kurkumin telah terbukti, bahwa kurkumin dapat menginduksi apoptosis pada sel *myelogenous leukemia* HL-60 melalui aktivasi caspase-8, pelepasan sitokrom c dan aktivasi caspase-9 (Anto, 2002). Pada penelitian tersebut juga dikemukakan bahwa Bcl-2 dan Bcl-xL berperan sebagai regulator negatif (antiapoptosis) pada proses induksi apoptosis oleh kurkumin.

Kurkumin juga memiliki potensi sebagai penghambat proliferasi pada sel kanker berkaitan dengan penghambatan ekspresi onkogen seperti *fos*, *jun* dan *myc* yang memodulasi proliferasi sel kanker (Kakar and Roy, 1994). Potensi antikanker kurkumin juga ditunjukkan dari aktivitasnya menghambat proliferasi berbagai sel kanker dan menghambat aktivitas *c-jun* dan protein kinase (Aggarwal *et al.*, 2003).

Pentagamavunon-0 sebagai analog kurkumin terbukti memiliki aktivitas anti-proliferatif dan memacu apoptosis pada sel Ragi, sel Hela dan sel Myeloma (Da'i, 2003). Selanjutnya pentagamavunon-0 juga diketahui mempunyai IC<sub>50</sub> sebesar 6,35 µM terhadap sel kanker payudara T47D setelah pertumbuhan selama 24 jam (Susanto, 2004).

Efek antiproliferasi atau efek apoptosis kurkumin dan analognya (misalnya pentagamavunon-0) pada sel normal khususnya yang berkaitan dengan sistem reproduksi seperti sel luteal pada korpus luteum, belum pernah dipelajari. Di sisi lain diketahui, bahwa korpus luteum merupakan organ endokrin yang penting karena berhubungan dengan kelangsungan siklus

reproduksi dan kehamilan awal pada mamalia. Fungsi utama korpus luteum adalah memproduksi progesteron dan mengontrol panjang siklus menstruasi (Niswender *et al.*, 2003).

Sehubungan dengan hal tersebut penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek kurkumin dan pentagamavunon-0 terhadap proliferasi (terutama viabilitas) sel luteal.

## BAHAN DAN CARA KERJA

### Bahan

Subyek penelitian adalah sel luteal yang diambil dari korpus luteum (umur 4 hari) tikus (*Rattus norvegicus*, L) betina *premature* galur *Sprague Dawley* (UPHP UGM) yang diinduksi superovulasi dengan *Pregnant Mare's Serum Gonadotropin* / PMSG (Gestyl, Organon). Sel luteal diperoleh dengan cara mekanik dan enzimatis dari korpus luteum. Untuk pembuatan kultur sel luteal digunakan *Minimum Essential Medium* (MEM), *Fetal Bovine Serum* (FBS), Penisilin-Streptomisin (PenStrep), Gentamycin, Fungizone, *Phosphate Buffer Saline* (PBS), Kolagenase, Tripan Blue (Gibco, BRL, Life Technologies, Rockville, MD). Kimikalia yang diperlukan untuk perlakuan dan uji adalah kurkumin sintesis dan pentagamavunon-0 (Lab. Molnas, Fakultas Farmasi UGM), LH, PGF<sub>2α</sub> (Sigma Chemical Co, St. Louis), bahan-bahan untuk uji MTT (3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difenil).

### Cara kerja

#### 1. Rancangan penelitian

Subyek penelitian adalah kultur sel luteal yang terdiri atas 1 kelompok kontrol (pelarut), 3 kelompok kontrol dengan perangsangan LH dan atau PGF<sub>2α</sub> dan 8 kelompok perlakuan dengan kurkumin atau PGV-0 sehingga seluruhnya berjumlah 12 kelompok. Masing-masing kelompok terdiri atas 3 ulangan. Pengelompokan dilakukan secara random setelah kultur sel luteal mencapai sekitar 3 x 10<sup>5</sup> sel / ml. Ke 12 kelompok tersebut adalah 1, Kultur sel luteal (KSL) + pelarut metanol 1% (sebagai kontrol), 2, KSL + kurkumin; 3, KSL + PGV-

0; 4, KSL + LH; 5, KSL + PGF<sub>2α</sub>; 6, KSL + LH + PGF<sub>2α</sub>; 7, KSL + LH + kurkumin; 8, KSL + LH + PGV-0; 9, KSL + PGF<sub>2α</sub> + kurkumin; 10, KSL + PGF<sub>2α</sub> + PGV-O; 11, KSL + LH + PGF<sub>2α</sub> + kurkumin; 12, KSL + LH + PGF<sub>2α</sub> + PGV-0

## 2. Pembuatan media Minimal Essential Medium/MEM

Serbuk MEM dalam sachet dilarutkan dalam satu liter aquabides steril menggunakan pengaduk *magnetic stirrer*. Setelah larut tambahkan 2,2 gram sodium bikarbonat sehingga warnanya menjadi merah. pH medium kemudian diukur dengan menggunakan pH meter elektrik. Untuk memperoleh pH 7,4 dengan cara menambahkan NaOH (0,1M) bila pH kurang dari 7,4 atau ditambahkan HCl (0,1M) bila lebih dari 7,4. larutan medium MEM disaring dengan pompa peristaltik dalam ruang steril. Dari dalam tabung Erlenmeyer medium dilewatkan pipa plastik masuk ke dalam pompa yang pada ujungnya dipasang miliopore steril dengan lubang 0,22 mikrometer. Hasil saringan ditampung dalam botol medium steril untuk selanjutnya disimpan dalam lemari es pada suhu 2-8° C. Untuk membuat medium dispersi, ke dalam medium MEM ditambahkan antibiotika PenStrep 5%, Fungizone 1% dan kolagenase 1mg/ml. Untuk membuat medium pencuci, ke dalam medium MEM ditambahkan serum FBS 10%, sedangkan untuk membuat medium penumbuh kedalam medium MEM ditambahkan PenStrep 5%, Fungizone 0,7% dan FBS 10% (Freshney, 1990).

## 3. Pembuatan kultur sel luteal

Untuk mendapatkan korpus luteum dilakukan dengan menginduksi ovulasi dengan *Pregnant Mare Serum Gonadotropin* (PMSG) (Khan *et al.*, 1979) Dua belas ekor tikus betina galur *Sprague Dawley* (UPHP, UGM) umur 28 hari masing-masing disuntik secara intramuskular dengan 10 IU PMSG, Folligon (INTERVET) untuk menginduksi superovulasi yang dilakukan pada pukul 09.00 WIB. Ovulasi akan terjadi pada saat tikus umur 30 hari. Pada umur 31 hari

terbentuk korpus luteum umur 1 hari. Selanjutnya dilakukan pembedahan untuk diambil ovariumnya pada korpus luteum umur 4 hari atau umur tikus 34 hari.

Ovarium diambil dan dimasukkan dalam larutan *Phosphat Buffer Saline* (PBS) 10% Pen-strep. Korpus luteum diambil dari ovarium menggunakan forcep tumpul di bawah mikroskop stereo dan dibersihkan. Didispersi secara enzimatik dalam medium yang mengandung kolagenase dispase 1 mg/ml dan 5% Penstrep. Selanjutnya diinkubasi dalam inkubator CO<sub>2</sub> 5%, 37°C selama 1,5 jam.

Kemudian didispersi secara mekanik dengan divorteks dan digojog selama 1 menit dan diulangi sampai tiga kali. Suspensi sel disaring dengan kasa steril untuk selanjutnya disentrifus dengan MEM pencuci yang mengandung *Fetal Bovine Serum* / FBS (Gibco, BRL) 10%. Pencucian dilakukan dengan cara sentrifus pada kecepatan 720 g (2.000 rpm) selama 10 menit dan diulangi sebanyak tiga kali. Pada pencucian terakhir supernatan dibuang dan ke dalamnya ditambahkan MEM penumbuh yang mengandung FBS 10%, Penstrep 5% dan Fungizone 0,1% (Freshney, 1990).

Perhitungan sel yang hidup dilakukan dengan hemositometer setelah dibubuhkan Tripian blue. Pengenceran dengan media penumbuh sampai diperoleh konsentrasi sel luteal antara 10<sup>5</sup>-10<sup>6</sup> sel/ml. Kemudian sel luteal ditanam dalam cawan kultur 96 sumuran dengan volume masing-masing 0,1 ml untuk selanjutnya diinkubasi dengan inkubator CO<sub>2</sub> 5%, 37°C selama 72 jam. Media kultur diganti dengan yang baru setiap 24 jam. Sel hidup akan menempel pada dasar cawan kultur, yang mati akan larut dalam media dan terbuang pada saat penggantian media. Kemudian dilakukan pemberian perlakuan dengan kurkumin dan PGV-0 dengan dosis tunggal yaitu 100 µM sesuai dengan desain penelitian. Sedangkan pada perangsangan dengan LH dan PGF<sub>2α</sub> masing-masing digunakan 50 ng/ml dan 0,56 µM.

#### 4. Uji viabilitas menggunakan metode MTT

Sel yang telah tumbuh dalam sumuran mikroplate 96 well setelah mencapai jumlah yang diinginkan, diberi perlakuan sesuai dengan desain penelitian. Kemudian diinkubasi selama 24 jam. Pada akhir inkubasi, pada masing-masing sumuran ditambahkan 10  $\mu$ l MTT 2,5  $\mu$ g/ml dalam medium RPMI. Kemudian diinkubasi lagi selama 6 jam pada suhu 37°C. Sel yang hidup akan bereaksi dengan MTT membentuk warna ungu. Reaksi MTT dihentikan dengan reagen *stopper* (HCl 10% dalam SDS), lalu diinkubasi semalam pada suhu kamar. Serapan warna (absorbansi) dibaca dengan ELISA *reader* pada panjang gelombang 550 nm (Da'i *et al.*, 2007).

Data yang didapat berupa hasil absorbansi masing-masing sumuran dikonversikan dalam prosen kehidupan sel dan dianalisis dengan uji statistik Friedman yang diikuti uji signifikansi untuk mengetahui perbedaan antara di antara masing-masing kelompok dengan uji Kisaran Kritis Friedman.

### HASIL

Dari hasil ELISA pada panjang gelombang 550 nm pada kultur sel setelah perlakuan kurkumin dan pentagamavunon-

0 (PGV-0) diperoleh nilai absorbansi dari masing-masing kelompok tersaji pada Tabel 1.

Dari nilai absorbansi yang tertera dalam Tabel 1 diperoleh prosentase sel hidup pada masing-masing kelompok adalah sebagai berikut (Tabel 2).

Perhitungan dengan uji statistik non parametrik Friedman terhadap prosentase kultur sel luteal hidup diketahui bahwa terdapat perbedaan sangat bermakna ( $p < 0,01$ ) pada semua kelompok. Selanjutnya dari uji perbandingan multipel dengan kisaran kritis Friedman diketahui bahwa pemberian kurkumin dan pentagamavunon-0 dengan dosis 100  $\mu$ M menurunkan prosentase sel hidup tetapi secara tidak bermakna ( $p > 0,05$ ) dibandingkan dengan kelompok pelarut (kontrol). Pada kelompok dengan perangsangan LH (50 ng/ml) dan atau PGF2 $\alpha$  (0,56  $\mu$ M) meningkatkan nilai rata-rata prosentase sel hidup secara tidak bermakna ( $p > 0,5$ ).

Pemberian kurkumin dan pentagamavunon-0 pada kultur sel yang dirangsang oleh LH, PGF2 $\alpha$  dan LH + PGF2 $\alpha$  menunjukkan peningkatan prosentase sel hidup secara sangat bermakna ( $p < 0,01$ ) dibandingkan dengan kelompok yang tidak diberi kurkumin atau pentagamavunon-0 saja Tabel 3.

Tabel 1. Nilai absorbansi dari masing-masing kelompok

Klmpk	Nilai Absorbansi			Mean	Std.dev.
	n1	n2	n3		
1.	0,212	0,213	0,209	0,211	1,69
2.	0,136	0,129	0,131	0,132	2,94
3.	0,134	0,107	0,152	0,131	0,02
4.	0,231	0,225	0,217	0,224	5,73
5.	0,241	0,211	0,243	0,231	0,01
6.	0,242	0,281	0,209	0,244	0,03
7.	0,865	1,057	1,039	0,987	0,09
8.	0,609	0,784	0,785	0,726	0,08
9.	0,657	0,814	0,843	0,771	0,08
10.	0,753	0,762	0,867	0,794	0,05
11.	0,632	0,632	0,700	0,654	0,03
12.	0,670	0,668	0,725	0,689	0,03

Ket: kelompok 1, pelarut (MEM); 2, kurkumin; 3, PGV-0; 4, LH; 5, PGF2 $\alpha$ ; 6, LH + PGF2 $\alpha$ ; 7, LH + kurkumin; 8, LH + PGV-0; 9, PGF2 $\alpha$  + kurkumin; 10, PGF2 $\alpha$  + PGV-0; 11, LH + PGF2 $\alpha$  + kurkumin; 12, LH + PGF2 $\alpha$  + PGV-0

Selain itu antara kelompok yang diberi kurkumin dengan kelompok yang diberi PGV-0 tidak menunjukkan adanya perbedaan bermakna ( $p > 0,05$ ). Demikian pula antara kelompok kurkumin yang

sebelumnya dirangsang LH, PGF2 $\alpha$  dan LH + PGF2 $\alpha$  juga tidak berbeda bermakna ( $p > 0,05$ ) dibandingkan dengan kelompok PGV-0 yang sebelumnya dirangsang LH dan atau PGF2 $\alpha$ .

Tabel 2. Rata-rata prosentase sel hidup dari setiap kelompok

Klmpk	Prosentase sel hidup			Mean	Std.dev.
	n1	n2	n3		
1.	100	100	100	100	0,00
2.	64,15	60,50	62,67	62,46	1,80
3.	63,21	50,23	72,73	61,72	11,26
4.	108,96	105,63	103,82	106,14	2,60
5.	113,67	99,06	116,26	109,66	9,27
6.	114,15	131,92	100	115,35	15,99
7.	408,01	496,24	497,12	467,12	51,19
8.	287,26	368,07	375,59	343,64	48,97
9.	309,90	382,16	403,34	365,13	48,99
10.	355,19	357,74	414,83	375,92	33,72
11.	298,11	296,71	334,92	309,91	21,66
12.	316,08	313,61	346,88	323,85	19,97

Ket: kelompok 1, pelarut (MEM); 2, kurkumin; 3, PGV-0; 4, LH; 5, PGF2 $\alpha$ ; 6, LH + PGF2 $\alpha$ ; 7, LH + kurkumin; 8, LH + PGV-0; 9, PGF2 $\alpha$  + kurkumin; 10, PGF2 $\alpha$  + PGV-0; 11, LH + PGF2 $\alpha$  + kurkumin; 12, LH + PGF2 $\alpha$  + PGV-0

Tabel 3. Uji kisaran kritis Friedman dari setiap kelompok

Nilai R												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	-	5,5	6,5	3,5	3,5	5,0	25,5**	15,5*	19,5**	20,5**	11,5	15,5*
2		-	1	9	9	10,5	31**	21**	25**	26**	17*	21**
3			-	10	10	11,5	32**	22**	26**	27**	18*	22**
4				-	0	1,5	22**	12	16*	17*	8	12
5					-	1,5	22**	12	16*	17*	8	12
6						-	20,5**	10,5	14,5	15,5*	6,5	10,5
7							-	10	6	5	14	10
8								-	4	5	4	0
9									-	1	8	5
10										-	9	5
11											-	4
12												-

Ket: kelompok 1, pelarut (MEM); 2, kurkumin; 3, PGV-0; 4, LH; 5, PGF2 $\alpha$ ; 6, LH + PGF2 $\alpha$ ; 7, LH + kurkumin; 8, LH + PGV-0; 9, PGF2 $\alpha$  + kurkumin; 10, PGF2 $\alpha$  + PGV-0; 11, LH + PGF2 $\alpha$  + kurkumin; 12, LH + PGF2 $\alpha$  + PGV-0

\* terdapat perbedaan bermakna ( $p < 0,05$ )

\*\* terdapat perbedaan sangat bermakna ( $p < 0,01$ )

## PEMBAHASAN

Dari hasil uji statistik diketahui bahwa pemberian kurkumin atau pentagamavunon-0 saja dengan dosis 100  $\mu$ M

pada kelompok pelarut MEM belum mempengaruhi prosentase sel hidup dibandingkan dengan kelompok pelarut saja ( $p > 0,05$ ), meskipun nilai rata-ratanya lebih kecil. Demikian pula pada kelompok yang



diberi rangsangan hormon LH, PGF2 $\alpha$  dan LH + PGF2 $\alpha$  tidak menunjukkan peningkatan prosentase sel hidup secara bermakna dibandingkan dengan kelompok kontrol /pelarut ( $p > 0,05$ ). Akan tetapi dengan pemberian kurkumin atau pentagamavunon-0, kelompok yang dirangsang LH, PGF2 $\alpha$  atau LH + PGF2 $\alpha$  menunjukkan adanya peningkatan prosentase sel hidup secara sangat bermakna ( $p < 0,01$ ) dibandingkan kelompok yang diberi kurkumin atau pentagamavunon-0 (PGV-0) saja maupun jika dibandingkan dengan kelompok yang dirangsang oleh hormon LH dan atau PGF2 $\alpha$  saja.

LH diketahui merupakan hormon yang merangsang perkembangan dan fungsi korpus luteum (sel luteal), sedangkan PGF2 $\alpha$  merupakan hormon yang berkaitan dengan terjadinya regresi korpus luteum atau terjadinya luteolisis (Niswender *et al.*, 2000; Niswender, 2002). LH merupakan hormon gonadotropik yang merangsang sel luteal untuk memproduksi progesteron, sedangkan PGF2 $\alpha$  bersifat antigonadotropik yang berhubungan dengan penurunan atau hambatan produksi progesteron sel luteal.

Dari hasil penelitian di atas terkesan bahwa efek gonadotropik dari LH maupun efek antigonadotropik dari PGF2 $\alpha$  yang diberikan pada kelompok kontrol (tanpa pemberian kurkumin atau PGV-0) belum tampak, karena tidak ada perbedaan bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok yang diberi rangsangan LH saja, PGF2 $\alpha$  saja maupun keduanya terhadap prosentase sel luteal hidup (viabilitas sel luteal). Hal ini diduga bahwa pengikatan hormon-hormon tersebut dengan reseptornya belum mempengaruhi ekspresi gen atau protein yang berperan dalam proliferasi kultur sel luteal.

Uji viabilitas sel (termasuk sel luteal) menggunakan metode MTT dilakukan berdasarkan aktivitas enzim yang dapat diukur secara kalorimetri menggunakan spektrofotometer. Metode ini mengukur viabilitas sel baik yang masih membelah ataupun yang tidak membelah terhadap aktivasi metabolik atau penghambat-

an sel (Doyle and Griffith, 2000). Uji ini didasarkan pada kapasitas sistem enzim reduktase pada mitokondria untuk mengubah garam tetrazolium MTT {3-(4,5-dimetilazol-2-il)-2,5 -difenil tetrazolium bromide}, substrat larut dalam air yang berwarna kuning, menjadi formasan.

Formasan merupakan zat berwarna ungu yang tidak larut dalam air, sehingga dilarutkan menggunakan HCl 0,04 N dalam isopropanol (Sigma, 1999) atau 10% SDS dalam HCl 0,01 N. Intensitas warna ungu yang terbentuk dapat ditetapkan dengan spektrofotometri. Jumlah dari formasan berbanding lurus dengan jumlah sel yang viable (Mossman, 1983).

Dari penelitian ini diperoleh hasil bahwa kurkumin atau PGV-0 yang diberikan pada kultur sel yang dirangsang oleh LH dan atau PGF2 $\alpha$  dapat meningkatkan viabilitas sel luteal. Sebaliknya jika kurkumin atau PGV-0 diberikan tersendiri tanpa rangsangan kedua hormon tersebut menyebabkan terjadinya penurunan prosentase sel hidup meskipun tidak bermakna.

Dari penelitian terdahulu dilaporkan bahwa kurkumin maupun PGV-0 mempunyai daya sitotoksitas terhadap sel kanker T47D. Telah dilaporkan, bahwa pada pertumbuhan sel kanker selama 24 jam, PGV-0 memiliki daya sitotoksitas yang lebih tinggi dibanding kurkumin. Adanya daya sitotoksitas ini menyebabkan kurkumin dan PGV-0 merupakan zat yang bersifat antiproliferatif (Susanto, 2004).

Sifat antiproliferatif ini berhubungan dengan struktur dan aktivitas dari masing-masing senyawa. Adanya gugus keton pada kedua senyawa tersebut berhubungan dengan aktivitasnya sebagai antioksidan. Penggantian gugus  $\beta$  diketon pada kurkumin dengan gugus monoketon pada PGV-0 dapat memberikan aktivitas antioksidan yang berbeda (Tim Molnas, 2001). Aktivitas antikanker dari kurkumin sangat dipengaruhi oleh gugus *en* dan *keton* (sistem enon) pada rantai tengah (Majeed *et al.*, 1995). Substitusi gugus hidroksi (OH) pada posisi *para* dan metoksi pada posisi

*meta* yang dimiliki kurkumin berhubungan dengan sifat antikanker dari kurkumin.

Dari penelitian terdahulu dilaporkan juga bahwa kurkumin dapat memacu terjadinya apoptosis dan mempengaruhi gen-gen yang mengatur apoptosis (Khar *et al.*, 1999), penghambat siklooksigenase 2 (COX-2) dan lipoksigenase (Huang *et al.*, 1995) dan menghambat proliferasi sel kanker pada tikus dengan menghambat ekspresi onkogen seperti *fos*, *jun* dan *myc* (Kakar and Roy, 1994). Adanya hambatan (inhibitor dan repressor) terhadap COX-2 dari kurkumin ini dikaitkan dengan efek antiinflamasi dari kurkumin.

Pada jaringan yang mengalami inflamasi, ekspresi COX-2 akan meningkat yang akan mengakibatkan overproduksi prostanoide (termasuk prostaglandin). Adanya inhibitor COX-2 akan menyebabkan pencegahan overproduksi prostanoide dan akan mengurangi efek inflamasi, sementara pada sel kanker akan mencegah proliferasi dan memacu apoptosis. Proses apoptosis dipacu karena terjadinya akumulasi asam arakhidonat. Akumulasi asam arakhidonat akan mengakibatkan enzim spingomyelinase yang mengkatalisis pembentukan ceramide dan spingomielin. Adapun ceramide merupakan upregulasi dari proses apoptosis (Chan *et al.*, 1998).

Penghambatan proliferasi sel kanker oleh kurkumin berkaitan dengan penurunan ekspresi CycDI (*Cyclin-Dependent Kinase Inhibitor*) yang berakibat pada penghambatan fosforilasi gen target *pRb* yang diperantarai CDK4 (*Cyclin-Dependent Serine/Threonin Protein Kinase 4*) (Mukhopadhyay, 2001). Sebagaimana diketahui, daur sel diatur oleh beberapa protein diantaranya protein yang memegang peranan penting adalah *Cyclin*, *Cyclin Dependent Serine/Threonin Protein Kinase* (CDK) dan *Cyclin-dependent Kinase Inhibitor* (CKI) (King, 2000).

Ketika diproduksi, cyclin akan membentuk kompleks dengan CDK dan CDK dalam kompleks ini akan diaktifkan oleh CAK (*CDK Activating Kinase*). CDK yang aktif kemudian akan memfosforilasi gen target (*pRb*) yang dapat menyebabkan regulasi dari daur sel (Weinberg, 1995).

Dari uraian diatas menunjukkan bahwa efek kurkumin atau PGV-0 berupa hambatan proliferasi sel, hambatan ekspresi COX-2, penurunan ekspresi protein CycDI, penurunan jumlah sel hidup serta memacu apoptosis tersebut terjadi pada sel kanker. Efek antiproliferasi dari kurkumin dan PGV-0 dosis 100  $\mu$ M pada sel normal seperti sel luteal belum menunjukkan hambatan yang nyata karena prosentase sel hidup pada pemberian kurkumin dan analognya, tidak berbeda nyata dengan kelompok control/pelarut.

Sebaliknya pemberian kurkumin dan PGV-0 dapat meningkatkan proliferasi sel luteal yang sangat bermakna pada kelompok yang sebelumnya dirangsang oleh LH dan atau PGF2 $\alpha$ . Peningkatan tersebut bahkan jauh lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok yang dirangsang oleh kedua hormon tersebut (tanpa pemberian kurkumin atau PGV-0).

Sebagaimana diketahui LH merupakan hormon yang dapat menstimulasi produksi progesteron dan merangsang proliferasi sel luteal (Niswender *et al.*, 2000; Niswender, 2002). Dengan demikian ada dugaan bahwa kurkumin dan PGV-0 pada sel luteal dapat memiliki potensi sebagai zat/bahan antiproliferasi, sedangkan pada sel yang sebelumnya dirangsang hormon, efek antiproliferasi tersebut tidak terjadi. Sepertinya ada kecenderungan ikut meningkatkan efek proliferasi dari hormon LH dan menekan efek hambatan dari PGF2 $\alpha$ . Namun demikian hal ini masih perlu penelitian lebih lanjut.

## SIMPULAN DAN SARAN

### Simpulan

Pemberian kurkumin dan pentagamavunon-0 pada kultur sel luteal dosis 100  $\mu$ M tidak menurunkan viabilitas sel (prosentase sel hidup) pada kultur sel luteal, sedangkan pada kultur sel yang sebelumnya dirangsang hormon LH dan atau PGF2 $\alpha$ , pemberian kurkumin dan pentagamavunon-0 dapat meningkatkan viabilitas sel luteal secara bermakna.

## Saran

Penelitian lebih lanjut tentang efek kurkumin dan pentagamavunon-0 pada kultur sel luteal perlu dilakukan, antara lain untuk mengkaji ekspresi protein atau gen-gen yang berperan dalam proliferasi sel seperti cyclin, CDK atau protein yang berperan dalam apoptosis sel luteal seperti p53, Bax, Bcl-2, caspase..

## Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Fakultas Kedokteran dan UNIVERSITAS YARSI melalui dana YAYASAN YARSI untuk penelitian tersebut.

## KEPUSTAKAAN

- Aggarwal BB, Kumar A, and Bharti AC 2003. Anticancer potential of curcumin: preclinical and clinical studies. *Anticancer Res* 23(1A): 363-398.
- Anto RJ 2002. Curcumin (diferuloylmethane) induced apoptosis through activation of caspase-8, BID cleavage and cytochrome c release: Its suppression by actopic expression of Bcl-2 and Bcl-xL. *Carcinogenesis* 23(1): 143-150.
- Chan TA, Morin PJ, Vogelstein B, and Kinzler KW 1998. Mechanism Underlying Nonsteroidal Antiinflammatory Drug-Mediated Apoptosis. *Proc.Natl. Acad.Sci.* 95: 681-686.
- Da'i M 2003. Uji Aktivitas Antiproliferatif Pentagamavunon-0 Terhadap sel Ragi, sel Hela dan sel Myeloma. *Tesis*, Program Pascasarjana, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Da'i M, Meiyanto E, Supardjan AM, Jenie UA, Kawaichi M 2007. Potensi Antiproliferatif Analog Kurkumin Pentagamavunon terhadap Sel Kanker Payudara T47D. *Artocarpus* 7 (1): 14-20.
- Doyle A, and Griffiths JB 2000. *Cell and Tissue Culture For Medical Research*, John Wiley and Sons Ltd, New York.
- Freshney RI 1990. *Culture of Animal Cells. A manual of Basic Technique*, Second Ed, Alan R Lies Inc, New York
- Garg SK 1974. Effect of *Curcuma longa* (Rhizome) on Fertility in Experimental Animal, *Planta Medica* 26: 225-227.
- Huang MT, Ma W, Iou JR, Lu YP, Chang R, Newmark H, Conney AH 1995. Inhibitory Effects of curcumin on Tumorogenesis in Mice. In: Pramono S, Jenie UA, Sudibyo RS, Gunawan D Ed. *Recent Developments in Curcumin Pharmacochemistry*, Proceeding Of The International Symposium on Curcumin Pharmacochemistry (ISCP), Aditya Media, Yogyakarta. 47 - 61.
- Kakar SS and Roy D 1994. Curcumin inhibits TPA induced expression of c-fos, c-jun and c-myc proto-oncogens messenger RNAs in mouse skin, *Cancer Lett* 87(1): 85-89.
- Khan ML, Rosberg S, Lahav M, Lamprecht SA, Selstam G, Herlitz H, Ahren K 1979. Study of the mechanism of action of the inhibitory effect of PGF2 $\alpha$  on cyclic AMP accumulation in rat korpora lutea of various ages. *Biol Reprod* 21: 1175.
- Khar A, Ali AM, Pandasaradhi, Begum Z, and Anjum R 1999. Antitumor activity of curcumin is mediated through the induction of apoptosis in AK-5 tumor cells. *FEBS Letter*: 445: 165-168.
- King RJB 2000. *Cancer Biology*, 2<sup>nd</sup> ed., Pearson Education Limited, London.
- Majeed M, Badmaev V, Shivakumar U, Rajendran R 1995. *Curcuminoids: Antioxidant Phytonutrients*, Piscataway Inc, New York; 1995.
- Meiyanto E 1999. Kurkumin sebagai obat kanker. Menelusuri Mekanisme Aksinya *Majalah Farmasi Indonesia* 10 (94) : 224-236.
- Mossman T 1983. Rapid Colorimetric assay for Celluler growth and Survival Application to Proliferation and Cytotoxicity assays. *J Immune Methode* 65: 65-95.
- Mukhopadhyay A, Banerjee S 2001. Stafford of cell proliferation correlates with down-regulation of cyclin DI expression and CDK4-mediated retinoblastoma protein phosphorylation, *Oncogene* 21(57): 8852-8861
- Niswender GD, Juengel JL, Silva PJ, Rollyson MK, McIntush EW 2000. Mechanism Controlling the Function and Life Span of the Corpus Luteum. *Physiol Rev* 80 (1) : 1 - 29.
- Niswender GD 2002. Molecular Control of Luteal secretion of Progesterone. Review. *Reproduction* 123: 333-339.
- Sardjiman 2000. Synthesis of Some New Series of Curcumin Analogues, Antioxidative, antiinflamatory, antibacterial Activities, and Qualitative - Structure Relationship. *Dissertation*, Gadjah Mada University, Yogyakarta.
- Sigma 1999. *Biochemicals and Reagents for Life Science Research*. Sigma Aldrich C0, Singapore.
- Susanto A 2004. Daya Antiproliferasi Pentagamavunon-0 Terhadap sel Kanker payudara T47D, *Skripsi*, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Tim Molnas 2001. Uji Ketoksikan Akut, Keteratogenikan dan Ulserogenik Senyawa PGV-0, PGV-1, dan HGV-1 pada Tikus dan Kelinci, 1-28, *Laporan Penelitian* Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Timmerman H 1995. New perspective for anti-inflammatory drugs. In: Pramono S, Jenie UA, Sudibyo RS, Gunawan D Ed. *Recent Development in Curcumin Pharmacochemistry*, Proceeding International Symposium on Curcumin Pharmacochemistry (ISCP). Aditya Media, Yogyakarta. 1-12.



Tonnesen HH and Karlsen J 1995. High Performance Liquid Chromatography of Curcumin and Related Compound, *J Chrom* 259: 367 - 371.

Weinberg RA 1995. The Retinoblastoma Protein and Cell Cycle Control. *Cell* 71: 505-514.