

Kurkumin Analog, PGV-0 dan GVT-0 Menghambat Absorpsi Kolesterol dengan Penghambatan Aktivitas Enzim Lipase

(Curcumin Analogues, PGV-0 and GVT-0, Inhibit Cholesterol Absorption Through The Reduction on Lipase Activity)

IKA PUSPITA SARI^{1*}, ARIEF NURROCHMAD¹, IRFAN MURIS SETIAWAN¹,
SARDJIMAN²

¹Bagian Farmakologi dan Farmasi Klinik, Fakultas Farmasi UGM, Sekip Utara, Yogyakarta.

²Bagian Kimia Farmasi, Fakultas Farmasi UGM, Sekip Utara, Yogyakarta.

Diterima 21 Agustus 2012, Disetujui 28 September 2013

Abstrak: Kurkumin sejak lama dikenal memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi sekaligus antikolesterol. Senyawa-senyawa analog kurkumin seperti Pentagamavunon-0 (PGV-0) dan Gamavuton-0 (GVT-0) yang disintesis oleh Fakultas Farmasi UGM juga dikenal memiliki aktivitas antiinflamasi, bahkan PGV-0 memiliki aktivitas antiinflamasi lebih kuat dibanding kurkumin. Makin meningkatnya penyakit degeneratif khususnya hiperlipidemia mendorong dilakukannya penelitian menggali kemungkinan senyawa analog kurkumin sebagai antikolesterol. PGV-0 dan GVT-0 diberikan kepada tikus jantan yang telah terlebih dahulu diinduksi dengan pakan diet lemak tinggi (DLT) selama 30 hari. PGV-0 (dosis 20 mg/kg bb, GVT-0 (dosis 60 mg/kg bb) serta kontrol positif dengan orlistat (dosis 10,8 mg/kg bb) diberikan kepada tikus pada hari ke-30 hingga 45. Tikus tetap diberi pakan DLT sampai hari ke-45. Pada hari ke-0, 30 dan 45 dilakukan penetapan kadar kolesterol darah tikus serta penetapan aktivitas enzim lipase dari darah tikus. Orlistat, PGV-0 maupun GVT-0 mampu menurunkan kadar kolesterol tikus secara bermakna berkisar 23-33% ($P \leq 0,05$) dibandingkan kontrol.

Kata kunci: analog kurkumin, PGV-0, GVT-0, kolesterol, enzim lipase.

Abstract: Curcumin has been known to reduce cholesterol levels in hyperlipidemic state. Faculty of Pharmacy Universitas Gadjah Mada (UGM) synthesized curcumin analogues namely PGV-0 and GVT-0. Like curcumin, both PGV-0 and GVT-0 exhibit anti-inflammatory activities. The aims of this study were to determine the effect and the mechanism of curcumin analogues PGV-0 and GVT-0 on regulation of cholesterol levels in serum. This study was aimed to examine whether PGV-0 and GVT-0 affected cholesterol levels through cholesterol absorption which is regulated by lipase enzyme. To determine the reduction in cholesterol levels, rats were feed with high fat diet (HFD) for 45 days. PGV-0 and GVT-0 were given on day 31-45 at doses of 40 mg/kg bw and 60 mg/kg bw consecutively. Total cholesterol and lipase activity in serum were measured and then statistically analyzed using ANOVA and t-test. The increase of cholesterol levels was markedly reduced by the treatment with both curcumin analogues. Furthermore, lipase activity was clearly inhibited by the treatment with PGV-0 and GVT-0, suggesting that these compounds inhibit cholesterol levels through the reduction of lipase enzyme activity.

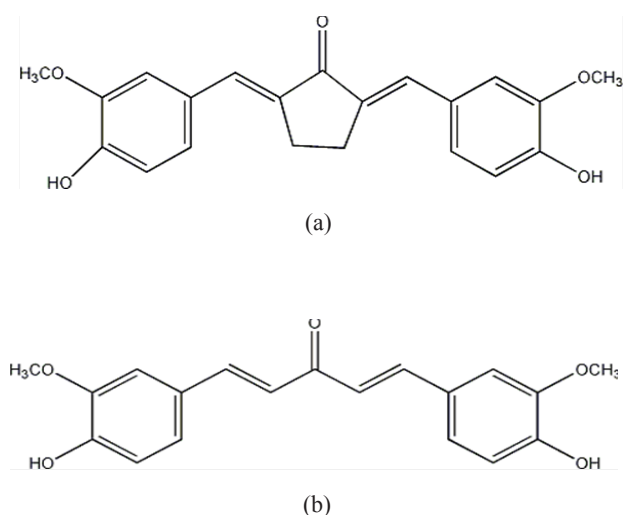
Keywords: curcumin analogues, PGV-0, GVT-0, cholesterol, lipase enzyme.

* Penulis korespondensi, Hp. 087739812603
e-mail: ika_tunggul@ugm.ac.id.

PENDAHULUAN

CURCUMIN Research Centre (CRC, dahulu bernama Molekul Nasional/Molnas) Fakultas Farmasi UGM telah melakukan sintesis senyawa-senyawa potensial analog kurkumin demi menjawab kebutuhan obat di masa depan khususnya diperuntukkan sebagai calon obat antiinflamasi, antioksidan, antikanker serta beberapa diteliti sebagai antibakteri dan antijamur⁽¹⁾. Sejak tahun 1970, Rao *et al.* telah melakukan penelitian efek antikolesterol dari kurkumin secara *in vivo* pada tikus⁽²⁾. Aktivitas sebagai antikolesterol dari kurkumin selanjutnya pernah pula dibuktikan pada hewan uji yang diinduksi dengan pakan lemak tinggi maupun hewan uji yang dibuat diabetes dengan induksi streptozotisin^(3,4,5). Kurkumin pernah pula diuji secara klinis sebagai antikolesterol^(6,7,8).

Bercermin dari kemampuan kurkumin sebagai antikolesterol, maka akan sangat menarik jika dilakukan uji aktivitas antikolesterol dari senyawa analog kurkumin yang telah disintesis oleh Fakultas Farmasi UGM yakni senyawa 2,5-bis(4'-hidroksi-3'-metoksi benziliden) siklopentanon (PGV-0) dan 1,5-(4'-hidroksi-3'-metoksi fenil)-1,4-pentadien-3-on (GVT-0) (Gambar 1).



Gambar 1. Struktur kimia dari PGV-0 (a) dan senyawa GVT-0 (b).

PGV-0 adalah senyawa analog kurkumin yang terbukti memiliki aktivitas antiinflamasi serta relatif aman dibandingkan senyawa analog kurkumin lainnya yang disintesis oleh Fakultas Farmasi UGM. Kemampuan PGV-0 sebagai antioksidan, antisiklooksigenase dan antiinflamasi jauh lebih kuat dibandingkan kurkumin^(9,10). GVT-0 adalah analog kurkumin lainnya yang terbukti bersifat sitotoksik dan anti ploriferatif pada sel RBL-2HE⁽¹¹⁾.

Penelitian tentang efek antikolesterol dari senyawa analog kurkumin PGV-0 dan GVT-0 belum pernah dilakukan, maka dalam penelitian akan dilakukan pengujian kemampuan kedua senyawa analog kurkumin tersebut dalam menurunkan kadar kolesterol serta kemungkinan mekanisme yang memerantarai penurunan kolesterol yakni hambatan absorpsi kolesterol secara *in vivo*. Kurkumin terbukti menunjukkan kemampuan sebagai antikolesterol pada dosis 80 mg/kg bb⁽¹²⁾ sedangkan PGV-0 dan GVT-0 berefek sebagai antiinflamasi pada 20 mg/kg bb dan 60 mg/kg bb⁽¹⁰⁾.

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Dalam penelitian ini digunakan PGV-0 dan GVT-0 hasil sintesis CRC Fakultas Farmasi UGM, natrium karboksi metil selulosa (Na-CMC), pakan lemak tinggi mengandung lemak babi 0,15% dan 0,05% kuning telur (DLT), orlistat (Xenical[®]), *Cholesterol FS reagen* (Diasys), kit enzim lipase (Biovision). Hewan uji yang digunakan yakni tikus (*Rattus norvegicus*) galur Wistar, jantan, berat badan berkisar 150 g, usia 2 bulan yang diperoleh dari Unit Pengembangan Hewan Percobaan (UPHP) UGM.

Alat. Timbangan tikus (Ohaus), spuit oral, tabung (Eppendorf), scalpel, Vitalabmicro[®].

Metode. Tikus jantan diadaptasikan dengan kondisi kandang selama 1 minggu (suhu udara berkisar 27-30°C, kelembaban ruangan berkisar 75-90%). Tikus berjumlah 30 dikelompokkan menjadi 2 kelompok yakni kelompok tanpa pemberian pakan lemak tinggi (normal) berjumlah 6 ekor dan kelompok pemberian pakan lemak tinggi (DLT) sebanyak 24 ekor.

Pemberian pakan dilakukan selama 30 hari, selanjutnya pada hari ke-31 hingga 45 diberikan perlakuan senyawa uji. Kelompok normal diberi air, kelompok DLT dibagi menjadi 4 kelompok sama banyak. Kelompok DLT I diberi Na-CMC 0,5% 1 mL/200 g tikus, kelompok DLT II diberi orlistat dosis 10,8 mg/kg bb dalam Na-CMC 0,5%, kelompok DLT III diberi PGV-0 dosis 40 mg/kg bb dalam Na-CMC 0,5% serta kelompok DLT IV diberi GVT-0 dosis 60mg/kg bb dalam Na-CMC 0,5%. Pemberian pakan DLT tetap diberikan pada hari ke-31 sampai 45. Pada hari ke-0, 30 dan 45 dilakukan pengambilan sampel darah tikus untuk dilakukan penetapan kadar kolesterol serta aktivitas enzim lipasenya.

Hasil penelitian berupa kadar kolesterol dan aktivitas lipase ditampilkan dalam bentuk rata-rata \pm *standard error* (SE), selanjutnya dianalisis secara statistik ANOVA dan uji-t menggunakan perangkat lunak SPSS 18.0.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pemberian pakan DLT selama 30 hari mampu menaikkan kadar kolesterol tikus secara bermakna sekitar 20-25% ($P \leq 0,05$, data tidak ditampilkan). Pemberian DLT telah dikenal sejak lama sebagai salah satu metode yang digunakan untuk membuktikan kemampuan suatu senyawa yang berperan dalam menghambat baik absorpsi, degradasi serta ekskresi dari kolesterol. Metode ini mampu meningkatkan kadar kolesterol berkisar 10-30%⁽¹⁴⁾. Metode ini pernah digunakan dalam menilai kemampuan senyawa dari kunyit serta senyawa FR 145237 dan AR 12456 sebagai penghambat kolesterol dan aterosklerosis^(5,14,15).

Dalam penelitian ini, DLT yang diberikan adalah lemak babi 0,15% dan 0,05% kuning telur yang diberikan selama 30 hari, dilanjutkan selama 15 hari DLT diberikan bersama dengan perlakuan baik orlistat maupun senyawa uji kurkumin analog GVT-0 dan PGV-0. Penelitian lain menggunakan bahan penginduksi hiperkolesterol biasanya campuran kolesterol dan kolat yang diberikan selama setidaknya 13 hingga 20 hari^(14,16,17). Metode induksi hiperkolesterol dengan pemberian kolesterol serta kolat sama halnya dengan penelitian yang dilakukan yakni lemak babi dan kuning telur sebagai sumber kolesterol, dalam kondisi fisiologis. Sementara beberapa peneliti melakukan induksi hiperkolesterol dengan waktu yang lebih cepat yakni sekitar 7 hari namun dengan

cara yang tidak fisiologis karena dilakukan dengan pemberian propil tio urasil (PTU) yang dikenal sebagai perusak kelenjar tiroid yang akibat akhirnya adalah gangguan metabolisme lemak yang ditandai dengan hiperkolesterol^(13,18).

Penelitian yang dilakukan terhadap PGV-0 dan GVT-0 dilakukan pada kondisi hewan uji yang diinduksi dengan DLT karena target yang ingin diamati adalah kemampuan kedua analog kurkumin ini dalam menghambat absorpsi kolesterol, khususnya terkait mekanisme penghambatan absorpsi kolesterol oleh hambatan kerja dari enzim lipase. Pada Tabel 1 tampak bahwa baik pemberian orlistat maupun PGV-0 dan GVT-0 mampu menurunkan kadar kolesterol tikus secara bermakna sekitar 23-33% ($P \leq 0,05$).

Orlistat adalah senyawa relatif baru yang dikenal sebagai penghambat enzim lipase, enzim terpenting dalam pemecahan lemak sehingga asam lemak dan monogliserid menjadi mudah terabsorpsi oleh membran usus. Dengan kata lain, orlistat adalah senyawa penghambat absorpsi lemak di usus. Kemampuan orlistat dalam menghambat kerja enzim lipase secara jelas tergambar dalam Tabel 2. Orlistat mampu menghambat aktivitas enzim lipase sebesar 32%. Senyawa analog kurkumin yakni PGV-0 dan GVT-0 juga memiliki kemampuan menurunkan kadar kolesterol tikus seperti orlistat (Tabel 1 dan 2). Kemungkinan besar kedua senyawa analog kurkumin ini bekerja dengan mekanisme yang mirip dengan

Tabel 1. Kadar kolesterol serum tikus yang diinduksi dengan pakan diet lemak tinggi (DLT).

Perlakuan	Hari ke-30 (mg/dL)	Hari ke-45 (mg/dL)	Penurunan kadar (%)
Normal	66,3±6,1	68,0±4,3	+3 ^b
DLT+Na-CMC	94,4±5,3	100,8±4,5	+6 ^b
DLT+orlistat (dosis 10,8mg/kg bb)	94,0±2,5	72,2±4,6	23 ^a
DLT +PGV-0 (dosis 20mg/kg bb)	95,7±5,1	63,8±1,4	33 ^{ab}
DLT+GVT-0 (dosis 60mg/kg bb)	94,8±5,7	66,2±2,1	30 ^{ab}

Keterangan:

Data adalah harga rata-rata ± *standard error/SE* (n = 6); a $P < 0,05$ dibandingkan dengan DLT + Na-CMC; b $P < 0,05$ dibandingkan dengan DLT + orlistat; + = terjadi kenaikan.

Tabel 2. Aktivitas enzim lipase serum tikus yang diinduksi dengan DLT.

Perlakuan	Hari ke-30 (mU/mL)	Hari ke-45 (mU/mL)	Penurunan aktivitas (%)
DLT+Na-CMC	11,0±3,3	12,0±1,3	+ 9 ^b
DLT+orlistat (dosis 10,8 mg/kg bb)	12,0±2,1	8,2±2,4	32 ^a
DLT +PGV-0 (dosis 20 mg/kg bb)	12,9±1,2	6,5±1,3	50 ^{ab}
DLT+GVT-0 (dosis 60 mg/kg bb)	12,0±1,3	8,1±2,5	41 ^{ab}

Keterangan:

Data adalah harga rata-rata ± *standard error/SE* (n = 6); a $P < 0,05$ dibandingkan dengan DLT + Na-CMC; b $P < 0,05$ dibandingkan dengan DLT + orlistat; + = terjadi kenaikan.

orlistat yakni menghambat proses absorpsi lemak yang secara jelas ditunjukkan pada penghambatan aktivitas enzim lipase.

Penelitian ini mengungkapkan bahwa senyawa analog kurkumin memiliki aktivitas mirip dengan kurkumin dalam hal menurunkan kadar kolesterol hewan uji⁽²⁾. PGV-0 adalah analog kurkumin yang masih memiliki gugus hidroksi dan metoksi namun memiliki perubahan dari kurkumin pada cincin β -diketon menjadi cincin siklopentanon terbukti masih menunjukkan aktivitas penghambat absorpsi kolesterol. Begitu pula GVT-0 memiliki perbedaan pada perubahan cincin β -diketon dari kurkumin menjadi monoketon, tanpa mengubah gugus hidroksi dan metoksi, terbukti bahwa perubahan cincin tersebut tidak mengubah aktivitas analog kurkumin ini sebagai antikolesterol melalui penghambatan enzim lipase seperti pernah ditunjukkan oleh penelitian sebelumnya terhadap kurkumin⁽¹³⁾.

SIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan senyawa analog kurkumin PGV-0 dan GVT-0 memiliki aktivitas antikolesterol yang bekerja dengan menghambat absorpsi kolesterol pada penghambatan aktivitas enzim lipase.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada *Curcumin Research Centre* (CRC) Fakultas Farmasi UGM atas pemberian senyawa PGV-0 dan GVT-0.

DAFTAR PUSTAKA

1. Reksohadiprodjo MH, Timmerman H, Sardjiman, Supardjan AM, Sudibyo M, Sugiyanto, *et al.* 2004, Derivatives of benzylidene cyclohexanone, benzylidene cyclopentanone and benzylidene acetone, and therapeutics use thereof, US Patent, US 6,777,447 B2.
2. Rao DS, Sekhara NC, Satyanarayana MN, Srinivasan M. Effect of curcumin on serum and liver cholesterol levels in the rat. *J Nutr.* 1970.100(11):1307-15.
3. Asai A, Miyazawa T. Dietary curcuminoids prevent high-fat diet-induced lipid accumulation in rat liver and epididymal adipose tissue. *J Nutr.* 2001.131(11):2932-2935.
4. Babu PS, Srinivasan K. Hypolipidemic action of curcumin, the active principle of turmeric (*Curcuma longa*) in streptozotocin induced diabetic rats. *Mol Cell Biochem.* 1997.166(1-2):169-175.
5. Ramirez-Tortosa MC, Mesa MD, Aguilera MC, Quiles JL, Baro L, Ramirez-Tortosa CL, *et al.* Oral administration of a turmeric extract inhibits LDL oxidation and has hypocholesterolemic effects in rabbits with experimental atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 1999.147(2):371-378.
6. Alwi I, Santoso T, Suyono S, Sutrisna B, Suyatna FD, Kresno SB, Ernie S. The effect of curcumin on lipid level in patients with acute coronary syndrome. *Acta Med Indones.* 2008.40(4):201-10.
7. Baum L, Cheung SK, Mok VC, Lam LC, Leung VP, Hui E, *et al.* Curcumin effects on blood lipid profile in a 6-month human study. *Pharmacol Res.* 2007. 56(6):509-14.
8. Soni KB, Kuttan R. Effect of oral curcumin administration on serum peroxides and cholesterol levels in human volunteers. *Indian J Physiol Pharmacol.* 1992.36(4):273-275.
9. Da'i M. Pengaruh gugus β -diketon terhadap daya reduksi kurkumin dan turunannya pada ion ferri [skripsi]. Yogyakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada; 1998.
10. Sardjiman. Synthesis of some new series of curcumin analogues, antioxydative, antiinflammatory, antibacterial activities and qualitative-structure activity relationships [dissertation]. Yogyakarta: Gadjah Mada University; 2000.
11. Nugroho AE, Sardjiman, Maeyama K. Efek sitotoksik dan atiproliferasi dari gamavuton-0 pada kultur sel leukemia basofilik tikus. *Majalah Farmasi Indonesia.* 2009.20(2):84-90.
12. Kalpana C, Rajasekharan KN, Menon VP. Modulatory effects of curcumin and curcumin analog on circulatory lipid profiles during nicotine-induced toxicity in Wistar rats. *J Med Food.* 2005.8(2):246-50.
13. Arafa HMM. Curcumin attenuates diet-induced hypercholesterolemia in rats. *Med Sci Monit.* 2005.11(7):BR228-34.
14. Sakuma Y, Hagihara H, Nagayoshi A, Ohne K, Mutoh S, Ito Y, *et al.* Effect of FR 145237, an aryl-CoA:cholesterol acyltransferase inhibitor, on diet-induced hypercholesterolemia in diabetic rats. *Life Sci.* 1997.60(6):351-6.
15. Breitz J, Mest HJ. A new derivative of tradipil (AR 12456) as a potential new antiatherosclerotic drug. *Cardiovasc Drugs Rev.* 1991.9:385-97.
16. Beynen AC, Lemmens AG, Katan MB, De Bruijne DD, Van Zutphen LF. Cholesterol metabolism and esterases in four strains of rats with different cholesterolemic responses to a high-cholesterol, high-cholelate diet. *Comp Biochem Physiol B.* 1987.87(1):41-8.
17. Monte MJ, Jimenez R. Effects of hypercholesterolemia-inducing diet on biliary electrolytes and lipid secretion in the rat. *Int J Exp Pathol.* 1993.74(2):203-10.
18. Hasimun P, Sukandar EY, Adnyana IK, Tjahjono DH. A simple method for screening antihyperlipidemic agents. *Int J Pharmacol.* 2011.7(1):74-8.