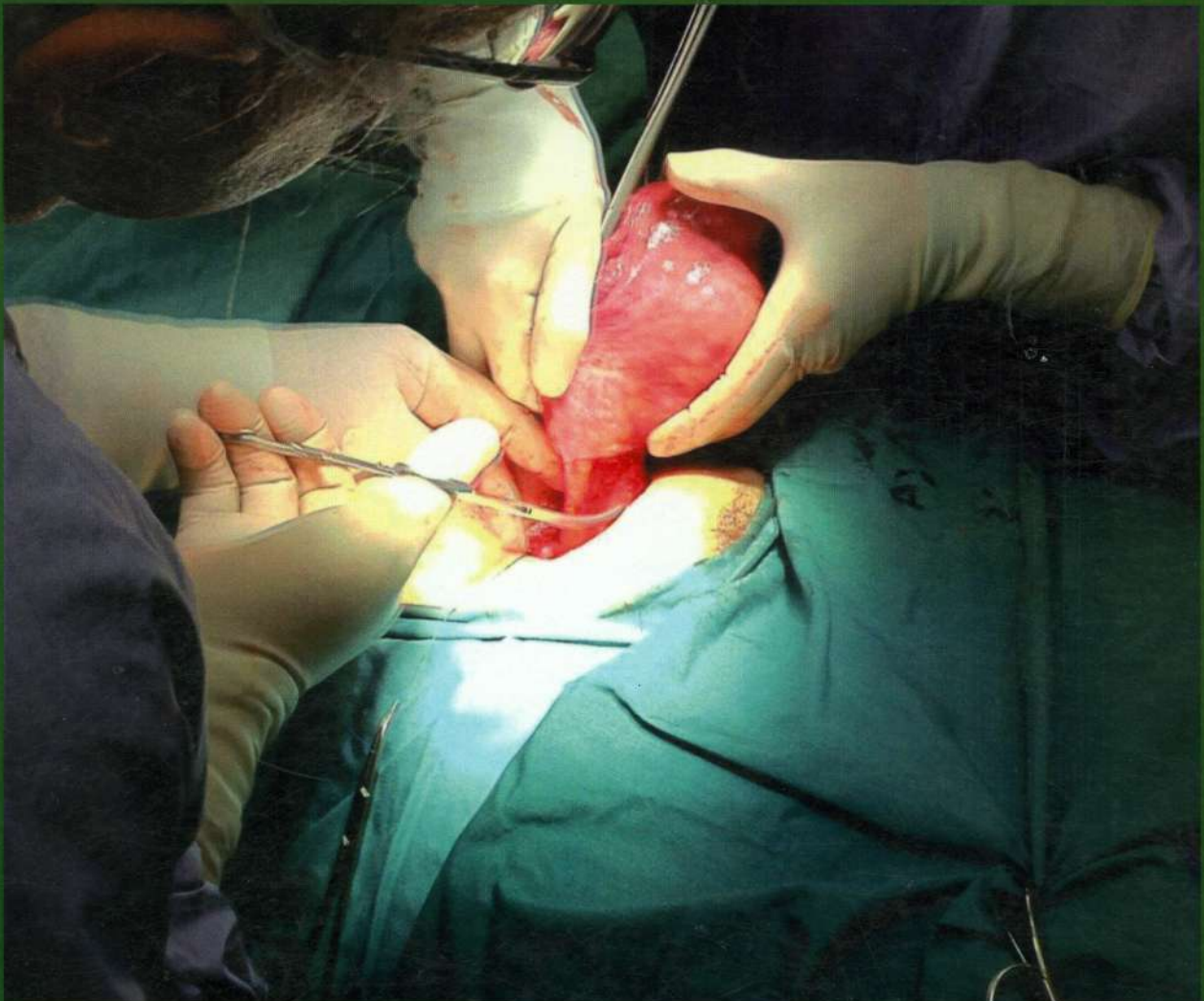


Majalah
***Obstetri &
Ginekologi***



TERAKREDITASI
SK Dirjen Dikti no. 58/DIKTI/Kep/2013

MOG	Vol. 22	No. 3	Hlm. 101 - 146	Sep - Des 2014	ISSN 0854-0381
-----	---------	-------	----------------	----------------	-------------------

Khasiat Berbagai Dosis Suplementasi Kurkumin pada Progresivitas Endometriosis di Hewan Coba Mencit

Jimmy Yanuar Annas¹, Hendy Hendar¹, Widjiati²

¹Departemen Obstetri dan Ginekologi, Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, RSUD Dr Soetomo, Surabaya

²Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga, Surabaya

ABSTRAK

Endometriosis merupakan penyakit progresif dengan angka kekambuhan tinggi. Kurkumin dapat menekan progresivitas endometriosis serta luas implan lesi endometriosis di endometrium. Belum diketahui besar dosis kurkumin yang optimal yang dapat menekan progresivitas endometriosis. Penelitian ini bertujuan mempelajari berbagai dosis suplementasi kurkumin pada progresivitas endometriosis pada hewan coba mencit. Penelitian ini merupakan eksperimen pada hewan coba di laboratorium (Post test only). Dua puluh delapan ekor mencit (*Mus musculus*) yang telah dirandomisasi, di injeksi cyclosporin A, estrogen intramuskuler, Kerokan Endometrium manusia diberikan secara intraperitoneal pada hari ke 1 untuk menginduksi terjadinya endometriosis like lesion. Pada hari ke 14, mencit dibagi menjadi 4 kelompok yakni mencit A diberi plasebo, mencit B diberi kurkumin 240mg/kgBB, 500mg/kgBB dan 1000mg/kgBB. Suplementasi tersebut diberi selama 7 hari dan pada hari ke 28, mencit di korbakan kemudian dievaluasi berat liver dan ginjal untuk melihat efek samping, luas area implan endometriosis, pengecatan imunohistologi untuk ekspresi Prostaglandin E2 (PGE2) dan Matrixmetalloproteinase (MMP-9). Luas area implan endometriosis pada mencit A,B,C, D 348.43 ± 185.1 mm², 140.14 ± 75.59 mm², 79.43 ± 26.98 mm², 31.71 ± 7.02 mm² ($p < 0.001$). Ekspresi PGE2 pada mencit A,B,C,D 5.14 ± 1.95 , 4.28 ± 1.38 , 3.43 ± 1.62 , 2 ± 0.58 ($p = 0.003$), ekspresi MMP-9 pada mencit A,B,C,D 3.71 ± 1.89 , 2.25 ± 1.97 , 1.43 ± 0.78 , 1.28 ± 0.49 ($p = 0.034$). Kami dapatkan korelasi positif antara PGE2 ($r=0,375$) dan MMP-9 ($r=0,561$) dengan luas area implan endometriosis. Tidak didapatkan perbedaan bermakna berat hepar dan ginjal antar kelompok perlakuan. Simpulan, pada mencit model endometriosis, pemberian suplementasi kurkumin berbagai dosis dapat menekan progresivitas endometriosis secara dose dependen. PGE2 mempunyai korelasi yang lebih kuat terhadap endometriosis dibanding MMP-9. (MOG 2014;22:118-125)

Kata kunci: curcumin, endometriosis progresivity, cyclooxygenase2, prostaglandin e2, matrixmetalloproteinase 9

ABSTRACT

Endometriosis is a progressive disease with high recurrence rate. Curcumin may suppress endometriotic progress as well as the size of endometriotic lesion implant in the endometrium. However, optimum curcumin dose that is able to suppress such progress remained unknown. This study was to evaluate increasing dose of curcumin supplementation on experimental endometriosis progresivity in mice. This was an animal laboratory experimental study (Post test only) involving 28 randomized mice (*mus musculus*) were given cyclophosphorin A and estrogen injection intramuscularly and human endometrium intraperitoneally on day 1 to induce endometriosis like lesion. On day 14 mice were divided into 4 groups, group A had placebo and group B,C,D had curcumin 240 gr/kgbb, 500gr/kgbb and 1000gr/kgbb respectively. treatments were given for 7 days. On day 28 mice were sacrificed and evaluated side effect of curcumin in liver and renal, sum of area of endometriosis like implant, immunohistological staining of Prostaglandin E2 (PGE2) and Matrix metalloproteinase 9 (MMP9) in peritoneum. Sum of area of endometriosis like implant on peritoneum on Group A,B,C,D were 348.43 ± 185.1 mm², 140.14 ± 75.59 mm², 79.43 ± 26.98 mm², 31.71 ± 7.02 mm² ($p < 0.001$). PGE2 staining on group A,B,C,D were 5.14 ± 1.95 , 4.28 ± 1.38 , 3.43 ± 1.62 , 2 ± 0.58 respectively ($p = 0.003$), MMP9 staining on group A,B,C,D were 3.71 ± 1.89 , 2.25 ± 1.97 , 1.43 ± 0.78 , 1.28 ± 0.49 respectively ($p = 0.034$). We found a significant positive correlation between PGE2 ($r=0.735$) and MMP9 ($r= 0.561$) with sum of area of endometriosis like implant. There was no significant difference of liver and renal weight between groups. In conclusion, on experimental endometriosis in mice, endometriosis implant progresivity responded to increasing dose of curcumin dose dependend manner. PGE2 had better correlation with endometriosis than MMP9. Further study is needed. (MOG 2014;22:118-125)

Keywords: curcumin, endometriosis progresivity, cyclooxygenase2, prostaglandin e2, matrixmetalloproteinase 9

Correspondence: Jimmy Yanuar Annas, Departemen Obstetri dan Ginekologi, Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, RSUD Dr Soetomo, Jl. Mayjen Prof dr Moestopo 6-8, Surabaya 60286, email: jimmyyanuar@gmail.com

PENDAHULUAN

Endometriosis adalah didapatkannya jaringan epitel maupun stroma diluar rongga uterus dan menimbulkan

reaksi inflamasi kronis. Keluhan terbanyak endometriosis diantaranya adalah nyeri panggul kronis, baik berupa dysmenorhea maupun dyspareunia. Angka kejadian endometriosis pada remaja dengan dysmenorhea cukup

tinggi, yakni 50–80%. Endometriosis merupakan penyakit yang progresif dan angka kekambuhannya tinggi sehingga memerlukan pengobatan jangka panjang.¹ Terapi endometriosis saat ini masih bersifat simtomatis yang bertujuan untuk mengurangi gejala nyeri. Pemberian terapi hormonal seperti progestin, pil kontrasepsi kombinasi, GnRH agonis dan Aromatase inhibitor dapat mengurangi keluhan nyeri dan progresivitas endometriosis. Namun Obat tersebut memiliki efek samping yang merugikan bila digunakan dalam jangka panjang, selain itu pemberian obat hormonal dapat menekan ovulasi sehingga sulit digunakan bersamaan dengan penanganan infertilitas.^{1,2,3}

Kurkumin merupakan pengobatan herbal yang mempunyai sifat anti inflamasi dan anti oksidan. Kurkumin merupakan ekstrak curcuma longa yang mempunyai khasiat anti Nuclear Factor Kappa B (NFkB) yang telah banyak diamati khasiatnya untuk terapi endometriosis.⁴ Kurkumin dengan dosis 240 mg/Kg BB dapat menekan progresivitas endometriosis serta luas implan lesi endometriosis di endometrium.^{5,6} Keuntungan dari kurkumin ini adalah efek samping yang rendah serta rentang dosis yang luas sehingga aman digunakan dalam jangka panjang.^{2,4} Selain itu kurkumin tidak menekan ovulasi sehingga dapat digunakan bersama obat stiulasi pada penanganan wanita endometriosis dan infertilitas. Rustam E 2007 mendapatkan bahwa khasiat anti inflamasi kurkumin pada mencit coba semakin meningkat dari dosis 100mg/kg BB, 500mg/Kg BB dan 1000mg/ Kg BB, serta tidak ditemukan efek samping. Belum ada data berapa dosis kurkumin yang optimal yang dapat menekan progresivitas endometriosis.

Endometriosis merupakan penyakit yang progresif dan angka kekambuhannya tinggi, penyebabnya masih belum jelas. Cairan peritoneum wanita endometriosis kaya akan sitokin proinflamasi seperti TNF α mendukung progresivitas endometriosis. Sarjana Wu dkk 2010 mendapatkan bahwa pada sel endometrium ektopik di lesi endometriosis didapatkan peningkatan aktivitas Cyclooxygenase-2 (COX-2) dan mengakibatkan ekspresi Prostaglandin E2 tinggi. Peningkatan PGE2 ini dapat memberikan umpan balik positif pada aktivitas NFkB yang merupakan faktor transkripsi sitokin proinflamasi dan Matrix Metalloproteinase terutama Matrix metalloproteinase 9 (MMP-9) yang sangat berperan terhadap implantasi sel endometrium ektopik di peritoneum.^{4,7,8} Bulun E dkk 2009 mengatakan bahwa PGE2 ini juga dapat menstimulasi aktivitas aromatisasi di lesi endometriosis peritoneum sehingga terjadi peningkatan kadar Estrogen lokal yang semakin mendukung progresivitas endometriosis. Oleh karena itu PGE2 dan MMP-9 ini diduga dapat menjadi

target terapi endometriosis dimasa depan.^{7,9} Kami menduga bahwa pemberian kurkumin dengan dosis 240mg/kg BB, 500 mg/kg BB dan 1000 mg/kg BB dapat memberikan khasiat yang semakin baik dalam menekan ekspresi PGE2, MMP-9 dan luas implan lesi endometriosis di peritoneum mencit coba.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan eksperimental laboratorium pada mencit coba dengan randomisasi secara buta berganda. Hewan coba yang digunakan pada penelitian ini adalah mus musculus. Penelitian ini dilakukan pada bulan November 2012 hingga Januari 2013 di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Kriteria inklusi penelitian ini adalah mencit betina berusia 3 bulan berat 30 gr, belum pernah kawin dan belum pernah digunakan untuk penelitian. Kriteria eksklusi diantaranya mencit betina cacat

Mencit betina usia 3 bulan dengan berat 30g yang telah diadaptasikan selama 1 minggu kemudian di induksi agar terjadi endometriosis di peritoneum dengan cara:injeksi siklosporin A 0,2cc secara intra muskuler pada hari 1, injeksi ethynil estradiol 20.000 IU sebanyak 0,095cc pada hari ke 1 dan 5, Hasil biopsi kerokan endometrium wanita yang menjalani histerektomi di haluskan, ditambahkan penicilin dan streptomisin kemudian diinjeksikan sebanyak 0,1cc ke intraperitoneal. Mencit kemudian dibagi menjadi 5 kelompok yaitu mencit A adalah mencit yang mendapatkan plasebo selama 14 hari, mencit B adalah mencit yang mendapat suplementasi kurkumin dosis 240 mg/kg BB selama 14 hari, mencit C adalah mencit yang mendapat suplementasi kurkumin dosis 500 mg/kg BB selama 14 hari, Mencit D adalah mencit yang mendapat suplementasi kurkumin 1000 mg/kg BB selama 14 hari.

Mencit dikorbankan dengan cara dislokasio servikalis, kemudian dilakukan pembedahan di perut untuk melakukan evaluasi luas implan endometriosis di peritoneum dan pengecatan imunohistokimia untuk evaluasi ekspresi PGE2 dan MMP-9. Gambaran endometriosis diketahui dengan melihat adanya stroma maupun jaringan endometrium pada pemeriksaan mikroskop dengan pengecatan Hematoksilin Eosin (HE). Pemeriksaan Ekspresi PGE2 dan MMP-9 dilihat dari biopsi lesi yang paling hiperemi kemudian dievaluasi dengan metoda Kaemmer dkk 2012 yakni melihat prosentase perlapangan pada pemeriksaan mikroskop pembesaran 400x kemudian dinilai dengan skor. kemudian dinilai skor, 0 bila tidak ada sel positif, 1 bila luas < 10%, 2 bila 11%-50%, 3 bila 51%-80%, 4 bila >80%. Intensitas warna (B) dinilai 0 bila tidak ada reaksi warna, 1 bila intensitas warna rendah, 2 intensitas

warna sedang, 3 intensitas warna kuat. Lalu Skala *Immunoreactive Score* dihitung dengan AxB. Untuk melihat normalitas data digunakan uji Kolmogorov Smirnov. Bila data berdistribusi normal dilanjutkan dengan uji Anova dan uji korelasi Pearson. Bila data tidak berdistribusi normal akan dilanjutkan dengan uji Mann Whitney, Uji Kruskal Wallis dan uji korelasi Spearman. Penelitian ini menggunakan tingkat kemaknaan sebesar 0,05.

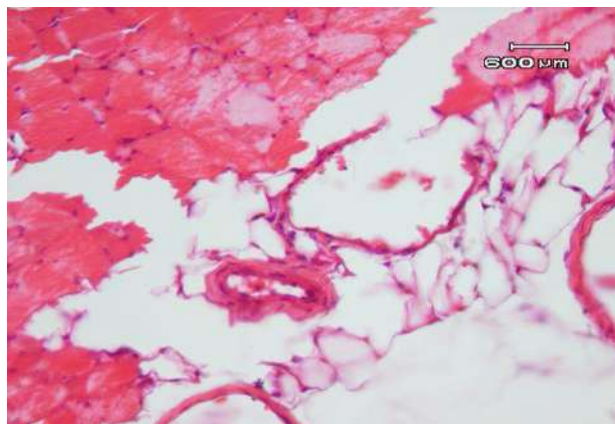
HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan di kandang hewan coba dan Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya, dengan sampel/mencit model endometriosis yang dapat diolah sebagai data yang telah memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi hingga akhir penelitian adalah 28 ekor mencit. Mencit model endometriosis tersebut terbagi dalam 4 perlakuan yang terdiri dari : Mencit A (n=7), Mencit B (n=7), Mencit C (n=7) serta Mencit D (n=7). 2 ekor mencit kami korbankan pada hari ke 13 untuk membuktikan adanya pertumbuhan endometriosis sebelum perlakuan, dan ternyata didapatkan pertumbuhan endometriosis pada mencit tersebut. Hasil Uji Kolmogorov Smirnov didapatkan bahwa variabel berat hepar, berat ginjal, ekspresi MMP-9 dan luas implan endometriosis didapatkan nilai kemaknaan $p > 0,005$ yang artinya distribusinya normal sehingga uji statistiknya menggunakan uji anova, sedangkan variabel berat mencit, endometriosis dan ekspresi PGE2 didapatkan nilai kemaknaan $P < 0,005$ yang artinya distribusi tidak normal sehingga menggunakan uji Kruskal Wallis.

Mencit model endometriosis

Pengecatan Hematoxilin Eosin (HE) pada biopsi peritonium yang didapatkan kejadian endometriosis pada Mencit A 7 ekor (100%), kemudian menurun pada Mencit B 3 ekor (42,8%), Mencit C 2 ekor (28,5%) dan Mencit D 1 ekor (1,4%) dan secara statistik perbedaan tersebut signifikan. Hal ini dapat dilihat pada Gambar 1.

Peneliti memilih menggunakan metoda hewan coba mencit model endometriosis heterolog. Keuntungan hewan coba model heterolog adalah kita menggunakan jaringan kerokan endometrium manusia, sehingga struktur histopatologis dan interaksi dengan sel imunitasnya diharapkan menyerupai lesi endometriosis yang sebenarnya. Selain itu, metoda heterolog ini lebih efisien dari segi biaya. Hasil pada penelitian ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menggunakan metoda serupa.^{5,10} Selain angka kejadian yang tinggi, struktur histologis endometrium masih dapat dipertahankan dengan baik. Metoda ini hampir sama efektifnya seperti metoda *Severe Combined Immunodeficiency (SCID)*.¹¹ Pemberian Siklosporin A jangka pendek mampu menekan proliferasi dan aktivitas sel Limfosit T, B dan Sel NK sehingga berinteraksi dengan jaringan endometrium mirip seperti yang terjadi pada lesi endometriosis manusia. Oleh karena lesi ini disebut *endometriosis-like lesion*. Pemberian suplementasi kurkumin berbagai dosis ternyata dapat memberikan respon penurunan kejadian endometriosis pada mencit secara dose dependent. Hal ini kemungkinan disebabkan karena kurkumin memiliki efek anti inflamasi dan anti oksidan sehingga mampu menekan aktivitas NFkB di peritoneum mencit model endometriosis, dan efek tersebut meningkat sesuai dosis kurkumin.^{4,6,5,12}



Gambar 1. Kelenjar endometrium pada dinding peritoneum mencit, disebut sebagai *Endometriosis like lesion*

Perbandingan khasiat berbagai dosis kurkumin terhadap progresivitas endometriosis

Tabel 1. Perbandingan ekspresi PGE2 antar kelompok perlakuan

	n	Rata-rata	Mean Rank	Nilai Minimum	Nilai Maksimum	Kemaknaan
Mencit A	7	5,14±1,95	20,36	4	8	0,003
Mencit B	7	4,28±1,38	18	2	6	
Mencit C	7	3,43±1,62	13,64	1	6	
Mencit D	7	2±0,58	6	1	3	

Tabel 2. Perbandingan Ekspresi MMP-9 antar kelompok perlakuan

	n	Rata-rata	Mean rank	Nilai Minimum	Nilai Maksimum	Kemaknaan
Mencit A	7	3,71±1,89	21,36	1	6	0,034
Mencit B	7	2,25±1,97	14,43	1	6	
Mencit C	7	1,43±0,78	11,36	1	3	
Mencit D	7	1,28±0,49	10,86	1	2	

Tabel 3. Perbandingan luas implan endometriosis antar kelompok perlakuan

	n	Rata-rata (mm ²)	Nilai Minimum	Nilai Maksimum	Kemaknaan
Mencit A	7	348,43±185,01	123	545	<0,0001
Mencit B	7	140,14±75,59	71	240	
Mencit C	7	79,43±26,98	40	107	
Mencit D	7	31,71±7,02	24	41	

Tabel 4. Perbandingan kemaknaan luas implan endometriosis antar kelompok perlakuan (Tabel Tamhene)

Kelompok perlakuan	Kelompok Pemanding	Perbedaan rata rata	Kemaknaan
Mencit A	Mencit B	208,29	0,141
	Mencit C	269*	0,048
	Mencit D	316*	0,024
Mencit B	Mencit A	208,29	0,141
	Mencit C	60,71	0,404
	MencitD	108,43	0,052
Mencit C	Mencit A	269*	0,048
	Mencit B	60,71	0,404
	Mencit D	47,71*	0,017
Mencit D	Mencit A	316,71*	0,024
	Mencit B	108,43	0,052
	Mencit C	41,71*	0,017

(*= bermakna)

Lesi pada peritoneum yang telah terbukti endometriosis like lesion secara histopatologis kemudian dilakukan pengecatan imunohistokimia untuk melihat ekspresi PGE2 dan MMP-9 dan dihitung luas implan endometriosis pada masing masing kelompok.

Rata-rata ekspresi PGE2 didapatkan perbedaan yang menurun dari Mencit A, Mencit B, Mencit C dan Mencit D dan setelah di uji statistik Kruskal Wallis didapatkan kemaknaan $p < 0,05$ yang artinya signifikan. Mean rank ekspresi PGE2 pada mencit D adalah yang paling tinggi dibanding Mencit C, B dan A. Pada Mencit A didapatkan skor intensitas ekspresi PGE2 yang kuat, Mencit B menunjukkan skor yang sedang, mencit C menunjukkan skor yang ringan dan mencit D tak nampak sel imunoreaktif (negatif). Hal ini dapat dilihat pada Tabel 1.

Mencit A menunjukkan skor intensitas dan rerata ekspresi PGE2 yang paling tinggi dibanding kelompok perlakuan, hal ini sesuai dengan yang dikatakan Wu dkk 2010 bahwa lesi endometriosis di peritoneum memiliki aktivitas COX2 yang tinggi. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh sitokin proinflamasi yang dikeluarkan makrofag yang dapat menstimulasi COX2, namun selain itu lesi endometriosis didapatkan ekspresi gen *cox2* yang tinggi sehingga lebih peka terhadap rangsangan. Kurkumin yang mempunyai khasiat anti inflamasi dan anti NFkB mampu menekan pertumbuhan lesi endometriosis di peritonium mencit model endometriosis. Efek penekanan ini dicapai salah satunya

melalui supresi aktivitas NFkB di lesi endometriosis, kurkumin menghambat aktivasi I κ B kinase sehingga NFkB tetap dalam kondisi inaktif. Dengan khasiat anti NFkB ini maka secara tidak langsung dapat menghambat peningkatan protein lain yang berada dalam pengaruh (*downstream*) dari protein faktor transkripsi NFkB tersebut diantaranya COX2, sitokin proinflamasi dan MMP-9.^{13,14,15,16}

Selain jalur penekanan melalui NFkB, kurkumin juga menekan ekspresi PGE2 secara langsung melalui penekanan COX2 pada tingkat molekuler yakni dengan meregulasi COX2 dan LOX. COX2 adalah enzim yang merubah asam arakhidonat menjadi Prostaglandin H2 yang merupakan protein inaktif yang siap dirubah menjadi PGE2 (protein aktif), dengan dihambatnya COX2 oleh kurkumin maka PGE2 akan menurun pula. Demikian pula efek kurkumin terhadap 5-LOX yang merupakan enzim yang mengkatalisasi terbentuknya Leukotrienes (LT) yang sangat berperan terhadap inflamasi. Respon khasiat kurkumin terhadap NFkB, COX2 dan LOX ini ternyata meningkat sesuai dosis.^{13,14,15,17} Hal ini terbukti pula pada penelitian ini, seperti yang tampak pada Mencit B, C dan D, didapatkan ekspresi PGE2 menurun secara signifikan sejalan dengan meningkatnya dosis kurkumin. Dengan PGE2 yang menurun diharapkan dapat menekan pula lingkaran umpan balik positif dengan sitokin proinflamasi dan aktivitas aromatisasi sehingga dapat efektif menekan progresivitas endometriosis.

Rata-rata ekspresi MMP-9 didapatkan perbedaan yang semakin menurun dari Mencit A, B, C, D dan setelah di uji secara statistik Kruskal Wallis didapatkan kemaknaan $p < 0,05$ yang artinya signifikan. Mean rank ekspresi MMP-9 pada Mencit D adalah yang paling tinggi dibanding Mencit C, B dan A. Pada Mencit A didapatkan skor intensitas ekspresi PGE2 yang kuat, Mencit B menunjukkan skor yang sedang, Mencit C menunjukkan skor yang ringan dan Mencit D tak nampak sel imunoreaktif (negatif). Hal ini dapat dilihat pada Tabel 2.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa peningkatan dosis kurkumin mampu menekan ekspresi MMP-9 yang berfungsi untuk degradasi Ekstraseluler Matrix (ECM) sehingga memudahkan sel endometrium ekotipik melakukan implanasi di peritoneum model endometriosis. Hal serupa juga didapatkan pada pengamatan lesi endometriosis pada mencit model endometriosis yang dilakukan oleh Swarnakar S dkk 2009, MMP-9 semakin menurun sejalan dengan ditingkatkannya dosis kurkumin yang diberikan secara intraperitoneal.

Aktivitas MMP-9 ini dipengaruhi oleh TIMP-1 dimana pada lesi endometriosis peritoneum meningkat di-

banding sel endometrium eutopik. Peningkatan MMP-9 tersebut memudahkan sel endometrium ekotipi untuk berimplanasi di peritoneum, hal ini belum diketahui sebabnya. Kurkumin menekan MMP-9 secara tidak langsung melalui penekanan COX2, NFkB, sitokin proinflamasi serta peningkatan TIMP-1.^{4,8}

Rata-rata luas implan lesi endometriosis di peritoneum didapatkan perbedaan yang semakin menurun dari Mencit A, B, C dan D dan setelah di uji statistik Anova didapatkan kemaknaan $p < 0,05$ yang artinya signifikan. Kemudian kami melakukan uji Post Hoc untuk mengetahui suplementasi kurkumin dosis mana yang mempunyai dampak penurunan yang paling efektif. Sebelumnya, terlebih dahulu kami lakukan test *homogeneity of variances*, ternyata didapatkan kemaknaan $< 0,0001$ artinya variabel tidak homogen, sehingga pada uji Post Hoc menggunakan tabel dari Tamhene. Dari tabel 4 didapatkan perbedaan kemaknaan luas implan lesi endometriosis di peritoneum yang semakin meningkat pada kelompok perlakuan, kemaknaan antara Mencit A dengan Mencit D adalah yang paling besar dibanding kemaknaan kelompok lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa Mencit D atau dosis kurkumin 1000 mg/kgBB memiliki dampak yang paling tinggi pada progresivitas endometriosis. Hal ini dapat dilihat pada Tabel 3.

Penurunan luas implan lesi endometriosis ini sejalan dengan peningkatan dosis kurkumin. Hal ini sesuai dengan yang didapatkan oleh Rustam E 2007 yang mengamati khasiat berbagai dosis kurkumin terhadap edema pada tungkai tikus, dengan semakin tinggi dosis kurkumin hingga 1000 mg/KgBB dapat menekan pembentukan edema pada penelitian tersebut tanpa menunjukkan adanya efek samping. Penurunan luas implan endometriosis di peritoneum ini kemungkinan disebabkan oleh dampak dari menurunnya ekspresi PGE2 dan MMP-9. Hal ini dapat dilihat pada Tabel 4.

Tampak simpang baku standar dan nilai maksimum dan minimum dari luas implan lesi endometriosis yang tumpang tindih antar kelompok perlakuan dan kontrol. Hal ini kemungkinan dikarenakan metoda untuk mengukur luas implan lesi endometriosis di peritoneum mencit model endometriosis ini menggunakan cara manual yaitu dengan kertas skala. Belum ada metoda yang tepat untuk mengukur luas implan endometriosis secara teliti. Kelemahan lain dari penelitian ini adalah distribusi berat mencit saat mulai penelitian tidak normal sehingga saat dilakukan uji normalitas didapatkan perbedaan yang signifikan. Hal tersebut disebabkan karena cadangan mencit pada saat itu yang terbatas. Hal ini dapat dilihat pada Tabel 3. Pada tabel 1,2 dan 3 didapatkan penurunan ekspresi PGE2, MMP-9 dan luas implan lesi endometriosis yang sejalan dengan

peningkatan dosis kurkumin. Namun apakah penurunan ekspresi PGE2 mempunyai pengaruh terhadap penurunan ekspresi MMP-9 dan luas implan lesi endometriosis pada mencit model endometriosis ini? Pada penelitian ini kami melakukan uji korelasi spearman untuk mengetahui pengaruh penurunan PGE2 dan MMP-9 terhadap penurunan luas implan endo-metriosis di peritoneum mencit model endometriosis ini. Hal ini dapat dilihat pada Tabel 5.

Adanya korelasi positif yang bermakna ($p < 0,05$) antara PGE2–MMP9, PGE2–luas implan endometriosis dan MMP9- Luas implan endometriosis, dengan koefisien korelasi secara berturut turut, 0,532, 0, 561 dan 0,735. Hal ini dapat dilihat pada Tabel 5.

Melalui uji korelasi Spearman kami dapatkan korelasi positif antara PGE2 dan luas implan lesi endometriosis yang bermakna secara statistic ($r=0.532$), ini artinya perubahan PGE2 mempengaruhi perubahan pada luas implan lesi endometriosis. Sarjana Wu dkk 2010 mengatakan bahwa aktivitas COX2 dan ekspresi PGE2 yang tinggi ini mempunyai dampak yang luas terhadap progresivitas endometriosis. PGE2 yang dihasilkan oleh lesi endometriosis ini dapat menekan aktivitas *scavenger* dari makrofag peritoneum melalui penekanan CD36 di makrofag, akibatnya imunitas tubuh tidak mampu mengeliminasi sel endometrium ektopik di peritoneum. PGE2 juga mampu mempengaruhi aktivitas aromatase melalui steroidogenic factor 1 (sf-1) yang akhirnya terjadi peningkatan estrogen lokal yang mampu mendukung proliferasi dan survivabilitiy dari sel endometrium ektopik. (Bulun SE 2009)^{1,7,18,19}

MMP-9 berperan dalam metastasis sel kanker, ternyata pada endometriosis ekspresi MMP-9 ini juga tinggi. Pada penelitian ini kami dapatkan korelasi positif yang bermakna ($r=0.735$) antara penurunan ekspresi PGE2 dengan penurunan ekspresi MMP-9 pada lesi endometriosis di peritoneum. Ini artinya COX2 mempengaruhi perubahan luas implan lesi endometriosis salah satunya melalui jalur MMP-9, hal ini sesuai dengan yang didapatkan oleh sarjana Itatsu K 2009 yang mempelajari pengaruh COX2 terhadap MMP-9 pada proses metastase cholangiocarcinoma, diduga COX2 melalui PGE2 meningkatkan MMP-9 melalui reseptor EP2/4. NFkB yang teraktivasi terus menerus oleh sitokin proinflamasi juga turut berperan dalam peningkatan MMP-9.^{16,20}

Dari tabel 5 juga tampak bahwa ternyata MMP-9 juga mempunyai korelasi yang positif terhadap luas implan lesi endometriosis. Hal ini mendukung bahwa MMP-9 ikut bertanggung jawab atas implantasi sel endometrium ektopik di peritoneum. Collete T dkk 2007 mendapatkan bahwa MMP-9 memang lazim didapatkan pada sel endometrium eutopik wanita normal namun pada sel endometrium ektopik wanita penderita endometriosis ekspresi MMP-9 ini tinggi secara terus menerus tanpa dipengaruhi siklus haid. Ada beberapa kemungkinan, yang pertama kemungkinan ada pengaruh dari defisiensi 17β -hydroxysteroid dehydrogenase 2 pada endometriosis sehingga terjadi konversi estradiol menjadi estrone terganggu atau kemungkinan ke dua ada pengaruh dari lingkungan peritoneum yang kaya akan sitokin proinflamasi.^{1,8,18} Yang menarik dari penelitian ini adalah koefisien korelasi ekspresi PGE2 dan luas implan lesi endometriosis lebih besar dibanding koefisien korelasi ekspresi MMP-9 dan luas implan lesi endometriosis, ini berarti PGE2 lebih berpengaruh terhadap luas implan lesi endometriosis dibanding MMP-9. Kemungkinan hal ini dikarenakan PGE2 selain mempengaruhi luas implan lesi endometriosis melalui MMP-9, juga dapat melalui penekanan kemampuan scavenger makrofag peritoneum sehingga sel endometrium semakin banyak makrofag yang teraktivasi yang pada akhirnya justru mendukung kelangsungan endometriosis di peritoneum.^{1,19}

Lingkungan cairan peritoneum yang tinggi akan sitokin proinflamasi merupakan kondisi yang optimal bagi pertumbuhan lesi endometriosis. Pada penelitian ini membuktikan bahwa PGE2 mempunyai peran yang cukup besar dalam progresivitas endometriosis dan dengan pemberian kurkumin sebagai anti inflamasi dan anti NFkB mampu menekan PGE2 yang diikuti dengan penurunan MMP-9 dan luas implan lesi endometriosis. Melihat peran PGE2 yang cukup besar pada patogenesis endometriosis maka dapat digunakan sebagai target terapi untuk menekan progresivitas endometriosis.^{1,7}

Tabel 5. Kemaknaan dan koefisien korelasi PGE2, MMP-9 dan luas implan endometriosis

Variabel	Kemaknaan (p)	Koefisien korelasi (r)
PGE2 dan MMP-9	0,004	0,532
MMP9 dan Luas implan endometriosis	0,002	0,561
PGE2 dan luas implan endometriosis	<0,0001	0,735

Tabel 6. Perbandingan berat hepar dan ginjal antar kelompok perlakuan

	n	Mencit A	Mencit B	Mencit C	Mencit D	Kemaknaan
Ginjal(gr)	28	0,2±0,13	0,19±0,021	0,19±0,035	0,16±0,21	0,55
Hepar(gr)	28	1,3±0,4	1,54±0,23	1,57±0,21	1,51±0,28	0,326

Perbandingan efek samping pada mencit yang diberi suplementasi berbagai dosis kurkumin

Kami melakukan pengamatan terhadap berat ginjal dan hepar untuk evaluasi efek samping pemberian suplementasi berbagai dosis kurkumin pada mencit model endometriosis. Hal ini dapat dilihat pada Tabel 6.

Setelah dilakukan uji statistik pada perbandingan berat hepar dan ginjal antar kelompok dosis kurkumin ternyata tidak didapatkan perbedaan bermakna antar kelompok dosis kurkumin dengan tingkat kemaknaan 0,55 dan 0,326. Hal ini menunjukkan bahwa ditemukan efek samping yang berbahaya antar kelompok perlakuan.

Swarnakar S dkk 2009 mendapatkan penurunan MMP-9 pada peritoneum mencit model endometriosis sejalan dengan meningkatnya dosis kurkumin dari 16 mg/kg, 32 mg/kg dan 48 mg/kg yang diberikan secara intra-peritoneal. Rustam E dkk 2007 mendapatkan perbaikan klinis yang sejalan ditingkatkannya dosis kurkumin dari 100 mg/kg bb, 250 mg/kg bb, 500mg/kg bb dan 1000 mg/kg bb tanpa ditemukan efek samping. Dari data penelitian kami yang juga didukung oleh penelitian lainnya, ternyata khasiat kurkumin ini sangat tergantung dengan dosisnya (*dose dependent*). Selain dipengaruhi dosis, bioaktivitas kurkumin juga dipengaruhi oleh jenis kurkumin yang digunakan, curcumin mix yang merupakan gabungan dari Cur, DMC dan BDMC yang masing-masing mempunyai efek anti inflamasi mampu bersinergi meningkatkan khasiatnya.^{21,22}

Food and Drug Administration atau FDA telah menyatakan bahwa kurkumin merupakan obat alternatif yang cukup aman baik bagi hewan coba maupun manusia. National Toxicity Program (NTP) melakukan pengamatan terhadap efek samping kurkumin pada hewan coba yang diberi makan kurkumin dengan berbagai dosis mulai dari 50 mg/kgbb hingga 2600mg/kgbb selama 13 minggu atau 2 tahun ternyata tidak didapatkan kematian yang disebabkan oleh pemberian kurkumin. Efek samping yang didapatkan biasanya berupa peningkatan berat hepar, ginjal, dan perubahan warna feses dan bulu.^{21,22} Pada penelitian kami tidak ditemukan adanya perubahan berat hepar, ginjal dan perubahan warna. Hal ini kemungkinan karena pemberian kurkumin hanya selama 14 hari atau 2 minggu saja.

SIMPULAN

Pada penelitian ini kami dapatkan perbedaan ekspresi PGE2, ekspresi MMP-9 dan luas implan endometriosis yang semakin rendah pada mencit model endometriosis yang mendapat plasebo, suplementasi kurkumin dosis 240 mg/kg BB, 500 mg/kg BB, dan 1000 mg/kg BB. Didapatkan korelasi positif yang bermakna antara ekspresi PGE2, ekspresi MMP-9 dan luas implan endometriosis diperitoneum. Pemberian suplementasi kurkumin dosis 240 mg/kg BB, 500 mg/kg BB dan 1000 mg/kg BB selama 14 hari tidak ditemukan perbedaan efek samping yang bermakna.

DAFTAR PUSTAKA

1. Speroff L, Fritz MA. Endometriosis, Clinical gynecology and infertility. 8th Eds. 2011. p. 1222-47.
2. Vigano P, Parazzini F, Somigliana E, Vercellini P. Endometriosis: epidemiology & aetiological factors. Best practices & research clinical obstetrics & Gynecology. 2004;18(2):177-200.
3. Surrey ES. Medical therapy for endometriosis: an overview in Toladi T advances and controversy of endometriosis. Marcel Dekker inc. 2004. p. 167-81.
4. Swarnakar S, Paul S. Curcumin arrests endometriosis by downregulation of Matrix Metalloproteinase 9 activity. Indian journal of biochemistry & Biophysics. 2009;46:59-65.
5. Saadi A, Hendarto H. Perbandingan khasiat kurkumin dengan medroxy progesteron acetate (MPA) terhadap ekspresi VEGF dan luas implan endometriosis (studi eksperimental mencit model endometriosis). 2010.
6. Kuswojo H, Sa'adi A, Hendarto H, Samsulhadi, Widjiati. Pengaruh curcumin terhadap ekspresi VEGF dan luas implan endometriosis. Penelitian Dept/SMF Kebidanan dan penyakit kandungan FK Unair, RSUD Dr Soetomo Surabaya. 2009.
7. Wu M, Lu C, Chuang P, Tsai S. Prostaglandin E2: The master of endometriosis? Experimental Biology and Medicine. 2010;235:668-77.
8. Collete T, Maheux R, Mailloux J, Akoum A. Increased expression of matrix Metalloproteinase-9 in the eutopic endometrial tissue of women with endometriosis. Human reproduction. 2006;21(12): 3059-67.

9. Bulun SE MD. Mechanisme of Endometriosis. *The New England Journal of Medicine*. 2009;360:268-79.
10. Vika SP, Hendarto H, Suhartono DS. Pengaruh pemberian siklosporin A sebagai penurun jumlah limfosit serum terhadap terjadinya implant endometriosis pada mencit. *Penelitian Dept/SMF Kebidanan dan kandungan FK Unair RSUD Dr Soetomo Surabaya*. 2006.
11. Grummer R. Animal Model in Endometriosis Research. *Human reproduction*. 2006;12(5):641-49.
12. Rustam E, Atmasari I, Yanwirasti. Efek anti inflamasi ekstrak etanol kunyit (*Curcuma domestica* val) pada tikus putih galur wistar. *Jurnal sains dan teknologi farmasi*. 2007;12(2):112-5.
13. Shishodia S, Singh T, Chaturvedi MM. Modulation of transcription factor by curcumin in The molecular targets and therapeutic uses of curcumin in health and disease. *Springer*. 2006:127-47.
14. Menon S. Anti oxidant and anti inflammatory properties of Curcumin in The molecular targets and therapeutic uses of curcumin in health and disease. *Springer*. 2006:127-147.
15. Rao C. Regulation of COX and LOX by curcumin in The molecular targets and therapeutic uses of curcumin in health and disease. *Springer*. 2006:127-47.
16. Gonzales R, Langendonck AV, Defrere S, Lousse JP, Colette S, Devoto L, Donnez J. Involvement of Nuclear factor kB pathway in the pathogenesis of endometriosis. *Fertility sterility*. 2010;5:34-45.
17. Murakami M, Nakatani Y, Tanioka T, Kudo I. Prostaglandin E Synthase. *Prostaglandin & Other lipid mediators*. 2002;8(69):383-99.
18. Bulun SE, Utsonomiya H, Lin Z, Cheng Y, Pavone ME, Tokunaga H, Elena T, Attar E, Gurates B, Milad MP, Confino E, Su E, Reiestard S, Xue Q. Steroidogenic Factor-1 and Endometriosis. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2009:104-8.
19. Taylor RN, Lebovic I. Endometriosis in *Yen & Jaffe's Reproductive endocrinology: Physiology, patophysiology and clinical management*. Sixth edition. *Saunders*. 2009. p. 577-95.
20. Itatsu K, Sasaki M, Yamaguchi J, Ohira S, Ishikawa A, Ikeda H, Sato Y, Harada K, Zen Y, Sato H, Ohta T, Nagino M, Nimura Y, Nakanuma Y. Cyclooxygenase 2 is Involved in the up regulation of matrix metalloproteinase 9 in Cholangiocarcinoma induced by Tumor Necrosis Factor Alpha. *The American Journal of pathology*. 2009;174(3):829-41.
21. Sandur SK, Pandey MK, Sung B, Ahn KS, Murakami A, Sethi G, Limtrakul P, Badmaev V, Aggarwal B. Curcumin Demethoxycurcumin, Bis-demethoxycurcumin, Tetrahydrocurcumin and turmerones differentially regulate anti inflammatory and anti proliferative response through a ROS independent mechanism. *Carcinogenesis*. 2007;28(8):1765-73.
22. Aggarwal BB, Harikumar KB. Potential therapeutic effect of curcumin, the anti inflammatory agent, against neurodegenerative, cardiovascular, pulmonary, metabolic, autoimmune and neoplastic disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. 2009;41:40-56.