



Efek Pentagamavunon-0 terhadap Konsentrasi cAMP dan Progesteron pada Kultur Sel Luteal yang mengandung Teofilin

The Effect of Pentagamavunon-0 on cAMP and Progesteron Concentrations of Luteal Cells Culture Containing Theophylline

Endang Purwaningsih¹, Sri Kadarsih Soejono², Djaswadi Dasuki³, Edy Meiyanto⁴

¹Department of Anatomy (Biology), Faculty of Medicine, YARSI University, Jakarta

²Department of Physiology, Faculty of Medicine, Gadjah Mada University, Yogyakarta

³Department of Obstetric and Gynecology, Faculty of Medicine, Gadjah Mada University, Yogyakarta

⁴Department of Molecular Biology, Faculty of Pharmacy, Gadjah Mada University, Yogyakarta

KEYWORDS *signal transduction; curcumin analog; culture plate; ELISA; RIA*

ABSTRACT *Curcumin analog (Pentagamavunon-0/PGV-0) can inhibit steroidogenesis of luteal cell culture. Corpus luteum secretes progesterone by LH stimulation. The main transduction signal of luteal cells steroidogenesis is through the cAMP/PKA. The objective of this study was to know the effect of PGV-0 on cAMP and progesterone concentration of luteal cell culture containing theophylline. The subject was corpus luteum of rat Sprague Dawley strain induced with PMSG (10 IU). PGV-0 was given shortly after the stimulation of LH and or PGF2a with or without theophylline. The cell culture then put into the incubator for 24 hours. Concentration of cAMP was assessed by ELISA whereas the progesterone concentration was determined by RIA. The result showed that LH stimulation caused cAMP and progesterone increase significantly. The inhibition of PGF2a on cAMP and progesterone concentrations showed no significant difference compared to the control. Theophylline increased the cAMP and progesterone concentration significantly but not to LH stimulation. PGV-0 did not inhibit cAMP concentration but PGV-0 inhibited the progesterone concentration by LH stimulation. In conclusion, PGV-0 inhibits signal transduction of luteal cell in down stream cAMP.*

Steroidogenesis pada sel luteal merupakan proses yang sangat kompleks dalam menghasilkan progesteron (P4) sebagai komponen utama. Dalam regulasi steroidogenesis sel luteal melibatkan beberapa hormon antara lain LH dan PGF2 α . Sekresi LH secara kontinyu merangsang korpis luteum untuk mensekresi progesteron (Keyes *et al.*, 1983, Stauffer, 2003). LH menstimulasi sekresi progesteron dengan

melibatkan aktivitas enzim adenilat siklase yang berada dalam membran sel luteal, pembentukan *Cyclic Adenosine 3',5' Monophosphate* (cAMP) dan aktivasi protein

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, Facksimile: 021-4243171

kinase A (PKA) serta enzim-enzim steroidogenik seperti sitokrom P450*side chain cleavage* (P450scc), 3 β -hidroksisteroid dehidrogenase (3 β -HSD) (Niswender *et al.*, 2000; Chin *et al.*, 2004).

Peran PGF2 α antara lain mengganggu ikatan LH dengan reseptor LH (R-LH) dan mengurangi jumlah R-LH (Khan *et al.*, 1979), menghambat aktivitas enzim adenilat siklase dan akumulasi cAMP (Thomas *et al.*, 1978; Ahren *et al.*, 1980), menurunkan sekresi progesteron melalui jalur protein kinase C (PKC) (Wiltbank *et al.*, 1990).

LH menstimulasi sekresi progesteron dengan melibatkan aktivitas adenilat siklase, pembentukan *cyclic* AMP (cAMP) dan aktivasi Protein Kinase A (PKA). Protein Kinase A (PKA) berperan dalam peningkatan fosforilasi *cAMP Response Element Binding Protein* (CREB), suatu faktor transkripsi (Wettschureek and Offermanns, 2005). Tang & Hurley (1998) menyatakan bahwa cAMP merupakan kunci dalam transduksi signal intraseluler pada sintesis hormon, *neurotransmitter* dan *chemokynes*. Tahap kunci dalam pengaturan transduksi sinyal melalui cAMP adalah memodulasi aktivitas adenilat siklase, suatu enzim yang mensintesis cAMP dari hidrolisis ATP. Aktivitas adenilat siklase dan akumulasi cAMP dapat dipengaruhi dan dirangsang oleh LH dan FSH (Nugent *et al.*, 1975). Menurut Thomas *et al.* (1978) pemberian teofilin, suatu zat yang dapat menghambat enzim fosfodiesterase yang menghidrolisis cAMP menjadi 5'AMP dapat meningkatkan produksi progesteron oleh kultur sel luteal.

Saat ini telah dapat disintesis secara laboratoris senyawa analog kurkumin dengan melakukan modifikasi pada gugus aromatik terminal dan metilen aktif dari kurkumin (Sardjiman, 2000). Salah satu senyawa analog kurkumin yang telah mendapat hak paten sebagai antiinflamasi dan diperkenalkan sebagai Molekul Nasional (MOLNAS) adalah Pentagama-

vonon-0 (PGV-0) ((2,5 bis (4'-hidroksi-3'-metoksi benzilidin) siklopentanon).

Peran PGV-0 maupun kurkumin pada sistem reproduksi belum banyak diketahui. Pada sistem reproduksi melalui uji *in vitro*, Zulkhah *et al.* (2000) melaporkan adanya pengaruh kurkumin pada kultur sel luteal setelah dirangsang oleh hCG. Selanjutnya Soejono *et al.* (2001) melaporkan kurkumin dan analognya, PGV-0 mempengaruhi produksi progesteron dengan maupun tanpa pemberian teofilin, suatu senyawa penghambat fosfodiesterase.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek analog kurkumin pentagama- vonon-0 /PGV-0 terhadap kadar cAMP dan kadar progesteron pada steroidogenesis kultur sel luteal (KSL) pada penambahan teofilin.

BAHAN DAN CARA KERJA

Bahan

Subyek penelitian adalah sel luteal yang diambil dari korpus luteum (umur 4 hari) tikus (*Rattus norvegicus*, L) betina galur *Sprague Dawley* (UPHP UGM) yang diinduksi superovulasi dengan *Pregnant Mare's Serum Gonadotropin* / PMSG (Gestyl, Organon). Sel luteal diperoleh dengan cara mekanik dan enzimatik 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, Tripkan Blue (Gibco, BRL, Life Technologies, Rockville, MD). Untuk pengukuran kadar cAMP dan kadar progesteron masing-masing digunakan kit ELISA cAMP (Sigma, Aldrich Inc, St Louise, London), Kit RIA Progesteron (DPC, Los Angeles, USA), teofilin (Sigma Aldrich Inc, St. Louise, MO). Kemikalia yang diperlukan untuk perlakuan dan uji adalah pentagamavunon-0 (Lab. Molnas, Fakultas Farmasi UGM), LH, PGF2 α , forskolin (Sigma Chemical Co, St. Louis).

Cara Kerja

Rancangan penelitian

Penelitian ini untuk mengkaji pengaruh PGV-0 terhadap kadar cAMP pada steroidogenesis KSL dengan penambahan LH dan atau PGF_{2α}. Penelitian terdiri atas enambelas kelompok yang terdiri dari delapan kelompok tanpa diberi teofilin dan delapan kelompok lainnya diberi teofilin. Kelompok-kelompok tersebut adalah 1. Kultur sel luteal (KSL) + pelarut metanol 1% (sebagai kontrol), 2. KSL + PGV-0; 3. KSL + LH, 4. KSL + LH + PGV-0; 5. KSL + PGF_{2α}; 6. KSL+ PGF_{2α} + PGV-0 7. KSL + LH + PGF_{2α}; 8. KSL + LH + PGF_{2α} + PGV-0.

Pembuatan kultur sel luteal (KSL)

Korpus luteum diambil dari ovarium menggunakan forcep gunting dan pinset steril dalam keadaan dingin di dalam ruang LAF. Korpus luteum yang diperoleh, dibersihkan, didispersi secara enzimatis dalam medium yang mengandung kolagenase/dispase 1 mg/ml dan 5% Penstrep. Selanjutnya diinkubasi dalam inkubator CO₂ 5%, 37°C selama 3x30 menit. Kemudian setiap 30 menit inkubasi didispersi secara mekanik dengan divorteks dan digojog selama 3 menit. Selanjutnya diinkubasi lagi dan vorteks serta digojog sampai sebanyak 3 kali, dan diulangi sampai tiga kali. Suspensi sel disaring dengan kasa steril untuk selanjutnya dengan MEM pencuci yang mengandung *Fetal Bovine Serum*/FBS (Gibco) 10% disentrifus menggunakan supersentrifus (Sorvall super T21) dengan kecepatan 720 g (2.000 rpm) pada suhu 4°C selama 10 menit. Pencucian tersebut diulang sebanyak tiga kali. Pada pencucian terakhir supernatan dibuang dan ke dalamnya ditambahkan MEM penumbuh yang mengandung FBS 10%, Penstrep 5%, Gentamycin 5% dan Fungizone 0,7% (Freshney, 1990).

Sebelum sel ditanam terlebih dahulu dihitung jumlah selnya. Perhitungan sel yang hidup dilakukan dengan hemositometer setelah dibubuhkan Tripkan blue. Pengenceran dengan media penumbuh sampai diperoleh konsentrasi sel luteal antara 10⁵-10⁶ sel/ml. Kemudian sel luteal ditanam dalam cawan kultur 24 sumuran dengan volume 0,5 ml atau pada cawan kultur 96 sumuran dengan volume masing-masing 0,1 mL untuk selanjutnya diinkubasi dengan inkubator CO₂ 5%, 37°C selama 72 jam. Media kultur diganti dengan yang baru setiap 24 jam dan dilakukan pengecekan dengan pengamatan kultur sel menggunakan mikroskop *inverted*. Sel hidup akan menempel pada dasar cawan kultur, yang mati akan mengambang dalam media dan terbuang pada saat penggantian media. Kemudian dilakukan pemberian perlakuan dengan kurkumin dan PGV-0 dengan dosis tunggal yaitu 100 μM/L sesuai dengan desain penelitian. Sebelum dilakukan pemberian perlakuan jumlah sel juga dihitung pada salah satu sumuran yang digunakan sebagai sampel.

Pengukuran kadar cAMP dan kadar progesteron (P4)

Pengukuran kadar cAMP dari sampel sel dalam kultur sel luteal mengikuti protokol kit ELISA cAMP (Sigma, Aldrich, St. Louise). Kadar progesteron hasil sekresi kultur luteal dalam medium, diukur menggunakan metode *Radiolmmuno Assay* (RIA). Pada prinsipnya cara kerja RIA berdasarkan kompetisi antara progesteron bebas dengan progesteron berlabel radioisotop.

Data kadar/akumulasi cAMP dan kadar progesteron diolah secara statistik dengan uji Anova satu arah. Untuk mengetahui adanya perbedaan diantara masing-masing kelompok dilakukan uji perbandingan berganda *Least Significant Difference* (LSD).

HASIL

1. Kadar cAMP

Kadar cAMP pada pemberian PGV-0 dari setiap kelompok dengan atau tanpa penambahan teofilin tersaji pada Tabel 1. Hasil uji statistik menunjukkan nilai $F = 4,813$ pada $p < 0,05$, sehingga menunjukkan adanya perbedaan bermakna antara kelompok-kelompok perlakuan. Kadar cAMP pada kelompok pelarut (kontrol) dengan teofilin lebih tinggi secara bermakna ($p < 0,05$) dibandingkan kelompok pelarut saja tanpa teofilin. Stimulasi LH pada KSL dengan adanya teofilin meningkatkan kadar cAMP secara tidak bermakna ($p > 0,05$) dibandingkan LH saja. Pada KSL yang mendapat $\text{PGF2}\alpha$ + teofilin dan LH + $\text{PGF2}\alpha$ + teofilin meningkatkan kadar cAMP secara tidak bermakna ($p > 0,05$) dibandingkan $\text{PGF2}\alpha$ saja dan LH+ $\text{PGF2}\alpha$ saja.

Pemberian PGV-0 pada kelompok kontrol dengan atau tanpa teofilin mengurangi kadar cAMP secara tidak bermakna ($p > 0,05$) dibanding kelompok pelarut saja. Kadar cAMP antara kelompok pelarut dengan teofilin dan pelarut saja tidak berbeda bermakna ($p > 0,05$) oleh adanya PGV-0. Kultur sel luteal (KSL) yang distimulasi $\text{PGF2}\alpha$ + teofilin dan LH + $\text{PGF2}\alpha$ + teofilin kadar cAMP berkurang secara tidak bermakna ($p > 0,05$) dibandingkan $\text{PGF2}\alpha$ dan LH+ $\text{PGF2}\alpha$ tanpa teofilin. Kadar cAMP pada KSL berkurang secara bermakna ($p < 0,05$) oleh PGV-0 terjadi pada KSL yang

distimulasi LH tanpa teofilin. Kadar cAMP berkurang secara tidak bermakna oleh PGV-0 + teofilin ($p > 0,05$) dibandingkan PGV-0 saja, tanpa teofilin.

2. Kadar progesteron (P4)

Kadar P4 pada pemberian PGV-0 dari setiap kelompok dengan dan tanpa teofilin tersaji pada Tabel 2. Produksi P4 oleh KSL pada penambahan teofilin, menunjukkan hasil uji statistik dengan nilai $F = 4,190$ pada $p < 0,05$, sehingga menunjukkan adanya perbedaan bermakna antara kelompok-kelompok perlakuan. Penambahan teofilin meningkatkan produksi P4 terutama pada kelompok pelarut. Produksi P4 pada pemberian teofilin saja lebih tinggi dibandingkan kelompok pelarut dan hampir sama tingginya dengan yang distimulasi LH saja dan LH+ teofilin. Produksi P4 berkurang secara bermakna ($p < 0,05$) jika pada kultur sel luteal ditambahkan kurkumin, baik pada pelarut maupun yang distimulasi LH, LH + $\text{PGF2}\alpha$ maupun LH + teofilin.

Penambahan teofilin meningkatkan produksi P4 secara tidak bermakna ($p > 0,05$) dibanding dengan pelarut saja (tanpa teofilin). Pada KSL yang mendapat LH saja, produksi P4 berkurang secara bermakna ($p < 0,05$) setelah ditambahkan PGV-0. Pemberian PGV-0 pada KSL yang mendapat $\text{PGF2}\alpha$ saja dengan atau tanpa penambahan teofilin dan LH + $\text{PGF2}\alpha$ mengurangi produksi progesteron secara tidak bermakna ($p > 0,05$).

Tabel 1. Kadar cAMP dari setiap kelompok setelah pemberian pentagamavunon-0 dengan dan tanpa teofilin

Kelompok	Kadar cAMP (pmol/ 3×10^5 sel/mL/24 jam) (mean \pm standar deviasi)	
	Tanpa teofilin	Dengan teofilin
Pelarut (kontrol)	0,09 \pm 0,07	0,19 \pm 0,03
Pelarut + PGV-0	0,08 \pm 0,03	0,13 \pm 0,03
LH	0,21 \pm 0,00	0,23 \pm 0,03
LH + PGV-0	0,14 \pm 0,00	0,16 \pm 0,06
$\text{PGF2}\alpha$	0,06 \pm 0,01	0,12 \pm 0,01
$\text{PGF2}\alpha$ + PGV-0	0,11 \pm 0,04	0,12 \pm 0,06
LH + $\text{PGF2}\alpha$	0,13 \pm 0,01	0,14 \pm 0,02
LH + $\text{PGF2}\alpha$ + PGV-0	0,11 \pm 0,00	0,12 \pm 0,01

Tabel 2. Kadar progesteron (P4) pada pemberian PGV-0 dari setiap kelompok dengan dan tanpa penambahan teofilin

Kelompok	Kadar P4 ng/3x10 ⁵ sel/mL/24 jam) (mean ± standar deviasi)	
	Tanpa teofilin	Dengan teofilin
Pelarut (kontrol)	0,68 ± 0,22	1,07 ± 0,22
Pelarut + PGV-0	0,47 ± 0,27	0,89 ± 0,27
LH	1,11 ± 0,28	1,21 ± 0,26
LH + PGV-0	0,70 ± 0,28	1,08 ± 0,15
PGF2α	0,65 ± 0,18	0,88 ± 0,17
PGF2α + PGV-0	0,60 ± 0,05	0,78 ± 0,06
LH + PGF2α	0,91 ± 0,21	1,06 ± 0,09
LH + PGF2α + PGV-0	0,72 ± 0,13	0,96 ± 0,29

PEMBAHASAN

Stimulasi LH meningkatkan kadar cAMP yang diikuti dengan peningkatan produksi P4 oleh KSL. Hal ini disebabkan LH dapat meningkatkan aktivitas adenilat siklase dan akumulasi cAMP (Thomas *et al.*, 1978). Selanjutnya peningkatan cAMP akan meningkatkan fosforilasi *Extracellular Signal Regulated Kinase* /ERK (Siraishi and Ascoli, 2006) dan ekspresi mRNA sitokrom P450_{scc} (Ravindranath *et al.*, 1992).

Penambahan PGF2α menghasilkan kadar cAMP berkurang tidak bermakna dibandingkan kadar cAMP kelompok pelarut. Hal ini menunjukkan PGF2α kurang memiliki efek terhadap cAMP. Pada KSL yang mendapat stimulasi LH, PGF2α menunjukkan efek antigonadotropik yang nyata. Sesuai dengan pendapat Thomas *et al.* (1978) dan Ahren *et al.* (1980) bahwa PGF2α menghambat akumulasi cAMP pada sel luteal yang distimulasi LH. Hambatan ini dapat terjadi melalui hambatan aktivitas adenilat siklase yang terimbas LH atau karena peningkatan degradasi cAMP.

Penambahan teofilin meningkatkan kadar cAMP secara bermakna dibandingkan kadar cAMP kelompok kontrol dan hampir sama dengan kadar cAMP pada KSL yang mendapat stimulasi LH saja

maupun LH + teofilin dan diikuti dengan peningkatan kadar P4. Kadar cAMP pada kelompok yang distimulasi LH saja tidak berbeda bermakna dengan kadar cAMP pada kelompok yang mendapat stimulasi LH + teofilin. Hal ini disebabkan peningkatan akumulasi cAMP oleh LH sudah terpakai untuk menstimulasi produksi P4, sehingga tidak ada lagi cAMP yang di-degradasi menjadi 5'AMP. Pemberian teofilin tidak mencegah hambatan akumulasi cAMP oleh PGF2α, karena teofilin tidak meningkatkan akumulasi cAMP yang terhambat PGF2α. Demikian pula PGF2α tidak menghambat kemampuan teofilin dalam meningkatkan kadar cAMP.

Pemberian PGV-0 menunjukkan kadar cAMP yang tidak berbeda bermakna dibandingkan kadar cAMP kelompok kontrol yang diikuti dengan tidak adanya perbedaan pada produksi P4 antara kelompok kontrol yang diberi PGV-0 dengan kontrol saja. Pentagamavunon-0 (PGV-0) tidak menunjukkan aktivitas antigonadotropik dengan menghambat akumulasi cAMP pada kelompok yang mendapat LH (LH+ PGV-0 vs PGV-0). Kadar P4 menunjukkan adanya hambatan bermakna pada kelompok yang distimulasi LH (PGV-0 vs LH+PGV-0). Pentagamavunon-0 (PGV-0) juga tidak menghambat

akumulasi cAMP oleh teofilin (teofilin vs teofilin+PGV-0) maupun oleh LH dalam meningkatkan akumulasi cAMP dan teofilin dapat mencegah aktivitas anti-gonadotropik dari PGV-0. Hal ini membuktikan bahwa PGV-0 tidak menghambat transduksi signal steroidogenesis KSL di antara LH dan cAMP, atau PGV-0 tidak menghambat transduksi signal steroidogenesis KSL di *up stream* cAMP. Berarti PGV-0 menghambat transduksi signal di *down stream* cAMP. Apakah PGV-0 menghambat fosforilasi PKA, misalnya mengganggu ikatan cAMP dengan subunit R dari PKA belum diketahui.

Menurut Wilson and Forster (1992) fosforilasi PKA diawali dengan terikatnya PKA (subunit R) dengan cAMP dan diikuti lepasnya subunit C dari kompleks subunit-R dan C, sehingga dapat melakukan aktivitas katalitiknya. Selanjutnya apakah PGV-0 juga bisa mengganggu fosforilasi PKA melalui hambatan mobilisasi kolesterol, perlu kajian lebih lanjut. Menurut New and Wong (2007) fosforilasi PKA dapat mengaktivasi mobilisasi kolesterol dan juga berperan dalam hidrolisis kolesterol ester oleh kolesterol esterase.

Kadar P4 dalam media kultur merupakan hasil steroidogenesis sel luteal. Kultur sel luteal dapat memproduksi P4 tanpa mendapat stimulasi LH. Hal ini yang menjadi salah satu keunggulan menggunakan kultur sel primer yaitu mempunyai kemampuan memproduksi progesteron. Menurut Thomas *et al.* (1978) kultur sel primer masih memiliki reseptor hormon yang terbawa (*intact*) dari jaringannya. Produksi progesteron dalam kondisi tanpa adanya stimulasi hormon ini, dikenal sebagai produksi P4 basal. Penelitian menggunakan kelompok yang diberi pelarut PGV-0 yaitu metanol 1% sebagai kontrol, karena penggunaan metanol dalam jumlah yang terbatas tidak mengganggu produksi P4. Dilaporkan oleh Soejono *et al.* (2001) pemberian metanol sebagai pelarut PGV-0 tidak mengganggu pertumbuhan

kultur sel luteal tikus. Pick *et al.* (2004) juga menyatakan penggunaan metanol sebagai pelarut obat pada kultur sel monosit THP1 dinyatakan aman hingga kadar 4%.

Stimulasi LH meningkatkan produksi P4 oleh KSL. Menurut Thomas *et al.* (1978) pemberian LH dosis 1 µg/ml pada KSL menyebabkan peningkatan produksi P4 hingga lima kali lipat kadar P4 basal. LH merupakan salah satu faktor luteotropik, selain *human chorionic gonadotropin* (HCG), prostaglandin E2 (PGE2), *Growth Hormone* (GH), *Insuline Like Growth Factor 1* (IGF-1), prolaktin (PRL) dan estriol (Niswender *et al.*, 2000; Arosh *et al.*, 2004). Sebagai gonadotrop (luteotrop) LH dapat meningkatkan aktivitas adenilat siklase, meningkatkan akumulasi cAMP dan aktivasi PKA (Thomas *et al.*, 1978). LH juga dapat meningkatkan ekspresi gen reseptor P4 (P4-R) pada sel luteal (Rekawiecki and Kotwica, 2007) dan meningkatkan ekspresi protein Cx43 (*conexin*) dan GJIC (*Gap Junctional Intracellular Communication*), suatu protein yang berperan dalam komunikasi antar sel luteal yang dapat meningkatkan produksi P4. GJIC dapat ditingkatkan oleh *second messenger* cAMP, PKC dan Ca⁺⁺ (Borowczyk *et al.*, 2007).

Dilaporkan oleh Christenson and Devoto (2003), bahwa hormon luteotropik memiliki mekanisme kerja secara langsung menstimulasi produksi P4 pada sel luteal melalui interaksi dengan reseptornya, maupun stimulasi secara tidak langsung melalui sintesis faktor pertumbuhan, sitokin dan faktor lain yang mempengaruhi fungsi sel luteal. Mekanisme peningkatan produksi P4 oleh LH diawali dengan pengaktifan reseptor *low density lipoprotein* (R-LDL) sebagai bahan utama steroidogenesis sel luteal. Kolesterol untuk proses steroidogenesis berasal dari kolesterol berbentuk lipoprotein (LDL dan HDL) dalam sirkulasi darah, kolesterol sintesis dari jalur *de novo* dari dua unit atom *carbon acetylcoenzym A* dan kolesterol hasil hidrolisis kolesterol

ester oleh kolesterol esterase (Wilson and Foster, 1992).

Prostaglandin F₂α (PGF₂α) pada KSL tidak menyebabkan produksi P₄ berkurang secara bermakna dibanding kelompok pelarut (P₄ basal). Hal ini menunjukkan bahwa PGF₂α tidak menghambat produksi P₄ basal. Berbeda dengan penelitian Thomas *et al.* (1978), PGF₂α menghambat produksi P₄ oleh KSL, baik PGF₂α saja maupun yang sebelumnya terangsang LH. Produksi P₄ yang tidak terhambat oleh PGF₂α menunjukkan bahwa efek antigonadotropik PGF₂α tidak konsisten (Thomas *et al.*, 1978). Diduga karena KSL umur 4 hari yang digunakan dalam penelitian merupakan fase *mid luteal*, yang kurang peka terhadap PGF₂α. Kepekaan terhadap PGF₂α meningkat sejalan dengan umur korpus luteum. Dilaporkan oleh Khan *et al.* (1979) dan Skarzynki and Okuda (1999) bahwa korpus luteum umur 3 hari kurang peka (resisten) terhadap PGF₂α dibandingkan korpus luteum umur 7 hari. Pemberian PGF₂α dapat menurunkan produksi P₄ pada umur korpus luteum 7 hari melalui hambatan ekspresi protein StAR (Fiedler *et al.*, 1999). Resistensi PGF₂α dikaitkan dengan peran enzim PGDH (*15-hydroxyprostaglandin dehydrogenase*), suatu enzim dalam sitosol yang bekerja berlawanan dengan COX-2 dengan mencegah terjadinya akumulasi PGF₂α. (Silva *et al.*, 2000).

Mekanisme aktivitas PGF₂α pada produksi P₄ oleh KSL dapat terjadi melalui jalur sinyal transduksi Ca²⁺ dan PKC (*Diacylglycerol/DAG* atau *inositol triphosphate/IP3*) (Okuda *et al.*, 1998; Wiltbank *et al.*, 1990). Menurut Stocco *et al.* (2000) PGF₂α dapat mengaktivasi ekspresi enzim *20α-hydroxysteroid dehydrogenase* (20α-HSD), enzim yang mengkatabolisme progesteron dengan melibatkan faktor transkripsi gen *Nur77*.

Pemberian PGV-0 dosis 100 μM menghasilkan produksi P₄ tidak berbeda

bermakna dibandingkan dengan produksi P₄ kelompok kontrol. Pentagamavunon-0 menunjukkan aktivitas antigonadotropik dengan menghambat produksi P₄ pada KSL yang terstimulasi LH tanpa teofilin. Pada penambahan teofilin, PGV-0 kurang menunjukkan aktivitas antigonadotropiknya. Pemberian PGV-0 pada KSL dengan penambahan teofilin menunjukkan kadar P₄ yang hampir sama dengan pemberian PGV-0 pada penambahan forskolin (suatu aktivator adenilat siklase). Sebelumnya Purwaningsih *et al.* (2007) melaporkan bahwa forskolin meningkatkan produksi P₄ seperti halnya LH. Pemberian PGV-0 menurunkan produksi P₄ pada KSL yang terstimulasi LH tanpa forskolin.

Dari pengamatan ini dapat disimpulkan bahwa Pentagamavunon-0 (PGV-0) dosis 100 μM tidak menghambat akumulasi cAMP dan menurunkan produksi P₄ terutama pada KSL yang terstimulasi LH. Penambahan teofilin meningkatkan kadar cAMP dan produksi P₄ KSL hampir setinggi stimulasi LH.

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efek PGV-0, misalnya terhadap reseptor LH, ekspresi protein StAR dan faktor-faktor transkripsi (seperti CREB, SF-1, Sp-1) yang berperan pada ekspresi enzim-enzim steroidogenik

Ucapan Terima kasih

Penulis mengucapkan banyak terima kasih terutama kepada Pengurus Yayasan YARSI dan Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi (Ditjen DIKTI) lewat skema BPPS atas bantuan biaya untuk terselenggaranya penelitian ini.

KEPUSTAKAAN

- Ahren K, Rosberg S, and Khan I 1990. On the Mechanism of Trophic hormone Action in the Ovary. In: Dumont, JE and Nunez, J (Eds) *Hormones and Regulations* 4. Elsevier North-Holland Biomedical Press.
- Borowczyk E, Johnson ML, Bilski JJ, Bilaska MA, Redmer DA, Reynolds LP, and Grazul-Bilaska AT

2007. Role of gap junctions in regulation of progesterone secretion by ovine luteal cells *in vitro*. *Reproduction*. 133: 641-651.
- Chin EC, Harris TE, and Abayasekara DRE 2004. Changes in cAMP dependent Protein Kinase (PKA) and Progesterone secretion in Luteinizing human granulosa Cells. *J. Endocrinol.* 183: 39-50.
- Christenson LK, and Devoto L 2003. Cholesterol transport and steroidogenesis by Corpus Luteum. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 1 (90): 1-9
- Freshney RI 1990. *Culture of Animal Cells. A manual of Basic Technique*, Second Ed, Alan R Lies Inc, New York
- Fiedler EP, Plouffe JrL, Hales DB, Hales KH, and Khan I 1999. Prostaglandin F_{2α} Induces a Rapid Decline in Progesterone Production and Steroidogenic Acute Regulatory Protein Expression in Isolated Rat Corpus Luteum Without Altering Messenger Ribonucleic Acid Expression. *Biol. Reprod.* 61: 643-650.
- Keyes PL, Gadsby JE, Yuh KCM, and Bill CH 1983. The Corpus luteum, In *Reproductive Physiology IV, International Review of Physiology*. 27, RO Greep Eds, University Park Press, Baltimore.
- Khan MI, Rosberg S, Lahav M, Lamprecht SA, Selstam G, Herlitz H, and Ahren K 1979. Study of the mechanism of action of the inhibitory effect of PGF_{2α} on cyclic AMP accumulation in rat corpora lutea of various ages. *Biol. Reprod.* 21: 1175.
- New DC, and Wong YH 2007. Molecular Mechanisms mediating the G-Protein Coupled Receptor regulation of cell cycle progression., *J Mol Signaling* 2-2 as doi:10.11871760-2128-2-2, 2007.
- Niswender GD, Juengel JL, Silva PJ, Rollyson MK, and McIntush EW 2000. Mechanism Controlling the Function and Life Span of the Corpus Luteum. *Physiol. Rev.* 80 (1): 1-29.
- Nugent C, Lopata A, and Gould MK 1975. The Effect of Exogenous Gonadotropins on Ovarium Adenylate Cyclase Activity. *Endocrinol.* 97 (3): 581-587.
- Okuda K, Uenoyama Y, Lee KW, Sakumoto R, and Skarzynski DJ 1998. Progesterone Stimulation by Prostaglandin F_{2α} Involves the Protein Kinase Pathway in Cultured Luteal Cells, *J. Reprod. Dev.* 44: 79-84
- Pick N, Cameron SC, Arad D, and Av-Gay Y 2004. Screening of Compounds Toxicity against Human Monocyte cell line THP-1 by Flow Chemistry. *Biol. Proce. Online* 6(1).
- Purwaningsih E, Meiyanto E, Dasuki Dj, Soejono SK 2007. Efek kurkumin sintesis dan Pentagamavunon-0 terhadap Produksi Progesteron Kultur Sel Luteal dengan Pemberian Forskolin, *J. Kedok. Yarsi.* 15(3):171-177.
- Ravindranath N, Little - Ihrig L, Benyo DF, and Zelesnik AJ 1992. Role of Luteinizing Hormone in the Expression of Cholesterol Side-Chain Cleavage Cyto-chrome P450 and 3β - Hydroxysteroid Dehydrogenase, Δ⁵⁻⁴ Isomerase Messenger Ribonucleic Acids in the Primate Corpus Luteum. *Endocrinology.* 131 (5): 2065-2070.
- Silva FJ, Juengel JL, Rollyson MLK, and Niswender GD 2000. Prostaglandin Metabolism in the ovine Corpus luteum: Catabolisme of PGF_{2α} Coincides with resistance of Corpus luteum to PGF_{2α}. *Biol. Reprod.* 83: 1229-1236.
- Skarzynki DJ, and Okuda K 1999. Sensitivity of Bovine Corpora Lutea to Prostaglandin F_{2α} Is Dependent on Progesterone, Oxytocin and Prostaglandin. *Biol. Reprod.*, 60: 1292-1298.
- Soejono SK, Amin SM, Nurcahyo H, and Hadi RS 2001. Peran kurkumin sintesis dan analognya (Pentagamavunon-O) pada produksi progesteron oleh kultur sel luteal Tikus (*Sprague Dawley*), *Mediagama.*, III (3).
- Stauffer RI 2003. Progesterone as mediator of Gonadotropin Action in the Corpus Luteum: Beyond Steroidogenesis. *Human. Reprod. Update.* 9(2): 94-117.
- Stocco CO, Zhong L, Sugimoto Y, Ichikawa A, Lau LF, and Gibori G. 2000. Prostaglandin F_{2α}-induced Expression of 20α-Hydroxysteroid Dehydrogenase Involves the Transcription Factor Nur77. *J. Biol. Chem.* 275 (47): 2647- 2659.
- Tang WJ, and Hurley JH 1998. Catalytic Mechansm and R egulation of Mammalian Adenylyl Cyclase. *Minireview. Molec. Pharmacol.* 54: 231-240.
- Thomas JP, Dorflinger LJ, and Behrman HR 1978. Mechanism of The Rapid Antigonadotropic Action of Prostaglandins in Cultured Luteal Cells. *Proc. Natl Acad. Sci.* 75 (3): 1344-1348.
- Wettschureek N, and Offermanns S 2005. Mammalian G Protein and Their Cell Type Specific Functions. *Physiol. Rev.* 85: 1159- 1204.
- Wiltbank MC, Diskin MG, Flores JA, and Niswender GD 1990. Regulation of The Corpus Luteum by Protein Kinase C. II. Inhibition of Lipoprotein - Stimulated Steroidogenegensis by Prostaglandin F_{2α}. *Biol. Reprod.* 42: 239-245.
- Wilson JD, and Foster DW Eds 1992. *Williams Textbook of Endocrinology*. 8th ed WB Saunders Co. Philadelphia.
- Zulkhah N, Soejono SK, and Suwono 2000. Pengaruh kurkumin sintetik Terhadap Produksi progesteron oleh kultur sel luteal tikus dengan pe-rangsangan hCG dan PGF_{2α}., *Sains Kedokteran, Berkala Penelitian Pascasarjana Ilmu-Ilmu Kesehatan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.*