

Kurkumin sebagai Agen Penghambat Penurunan Bobot Badan dan Skleroderma pada Mencit Akibat Induksi Bleomisin

(Curcumin Inhibits Bleomycin-induced Body Weight Loss and Scleroderma in Mice)

Annisa Rahmi^{1*}, Abdullah Baharun¹, Vetzisah Juniantito², Agus Setyono²

¹Program Studi Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Djuanda

²Bagian Patologi, Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis, IPB University

*Korespondensi Email : annisa.rahmi@unida.ac.id

ABSTRACT

*Curcumin is the main active ingredient from turmeric plant (*Curcuma longa*) has been known as anti-oxidant and anti-inflammatory agent. Bleomycin is an anti-cancer drug which have side effects such as scleroderma and body weight loss in animals or human. This study was aimed to determined biological effects of curcumin to bleomycin-induced scleroderma and body weight loss in mice (*Mus musculus*). Sixteen male mice (ddy strain) were divided in to four groups: (i) negative control, received aquadest injection 0,1 ml (SC); (ii) bleomycin (BLM), received 0,1 ml bleomycin 1 mg/ml SC injection; (iii) curcumin (CMN), received aquadest injection 0,1 ml (SC) and 100 mg/kg BW curcumin in 0,5% carboxymethylcellulose (IP); and (iv) BLM+ CMN, received 0,1 ml bleomycin 1 mg/ml SC injection and 100 mg/kg BW curcumin in 0,5% carboxymethylcellulose (IP). All treatments are given every day for 4 weeks and body weigh were measured every week. The dorsal skin as injection's dot evaluated by histopathology assessment with HE stains. BLM group showed body weight and hair follicles were loss significantly with skin fibrosis and inflammatory cells infiltration. However, CMN treatment showed opposite results in BLM-treated mice. Conclusively, this study showed CMN treatment may inhibit skin fibrogenesis in BLM-induced scleroderma and body weight loss.*

Keywords : *bleomycin; body weight; curcumin; mice; scleroderma*

PENDAHULUAN

Bleomisin merupakan sediaan obat golongan antitumor antibiotik. Pada pengobatan manusia, sediaan ini digunakan pada kasus kanker sevir, limfoma, *malignan pleural effusion*, kanker testis, kanker ginjal, *soft tissue lymphoma*, serta pada kanker vulva dan hati (Rahaman 2018). Menurut (Rahmi *et al.* 2015) terapi bleomisin

dapat menyebabkan efek samping terjadinya fibrosis paru-paru pada mencit. Matsushita *et al.* (2008) melaporkan bahwa injeksi lokal bleomisin selama 4 minggu dapat menyebabkan skleroderma pada murine.

Skleroderma merupakan penyakit kronis yang ditandai dengan

adanya penebalan dan pengerasan pada kulit dengan ciri khas lesio fibrotik dengan deposisi kolagen berlebihan serta berakibat pada kehilangan komponen kulit (Kowalska-Kępczyńska 2022). Penyakit ini sulit untuk disembuhkan dan menyebabkan penurunan produktivitas penderita akibat kesulitan bergerak. Skleroderma dapat disebabkan oleh faktor genetik (terutama faktor autoimun), serta akibat paparan bahan kimia dan biologis tertentu (Singh *et al.* 2019). Salah satu bahan yang dapat menginduksi terjadinya skleroderma yaitu bleomisin (Liang *et al.* 2015).

Awal kejadian skleroderma diinisiasi oleh peradangan (Kowalska-Kępczyńska 2022). Singh *et al.* (2019) melaporkan bahwa bleomisin dapat menstimulasi sel endotel, makrofag, dan fibroblast untuk menginduksi mediator radang, apoptosis, dan radikal bebas. Menghindari terjadinya radang merupakan salah satu cara untuk mencegah skleroderma (Rahman *et al.* 2015). Penggunaan sediaan antiinflamasi merupakan cara untuk mengurangi tingkat keparahan peradangan, dan salah satu sediaan yang memiliki efek antiinflamasi adalah kurkumin (Peng *et al.* 2021).

Kurkumin merupakan senyawa utama fitopolifenol berwarna kuning yang berasal dari keluarga Zingiberaceae yaitu rimpang kunyit (*Curcuma longa*). Kurkumin atau diferuloylmethane dilaporkan mempunyai aktivitas farmakologi sebagai antikanker, antiinflamasi, antioksidan dan antibakteri (Pellegrino *et al.* 2023). Kunyit merupakan rempah yang umum digunakan di India dalam pengobatan Ayurveda dalam mengobati peradangan. Peng *et al.* (2021) melaporkan bahwa kurkumin memiliki efek antiinflamasi yang signifikan pada kasus penyakit radang saluran cerna, artritis, psoriasis, arterosklerosis, dan COVID-19.

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari zat aktif kurkumin sebagai agen penghambat penurunan bobot badan dan skleroderma pada mencit (*Mus musculus*) akibat aplikasi bleomisin berdasarkan pendekatan patomorfologi. Sehingga diharapkan setelah diketahuinya efektivitas senyawa kurkumin ini, dapat menurunkan atau mencegah efek samping terapi bleomisin yaitunya scleroderma dan penurunan bobot badan.

MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Unit Pemeliharaan Hewan Laboratorium (UPHL) dan Laboratorium Bagian Patologi, Sekolah Kedokteran Hewan dan

Biomedis, IPB University. Seluruh metode dalam penelitian ini telah mendapatkan persetujuan atas perlakuan etik (*ethical approval*) dari Komisi Etik Hewan Institut Pertanian

Bogor Nomor 25-2014 IPB. Penelitian ini dibagi dalam tiga tahap, yaitu tahap pemeliharaan, perlakuan, dan pengamatan histopatologi kulit.

Hewan model yang digunakan adalah 16 ekor mencit jantan galur *ddy* umur 4 minggu dengan bobot badan 20-25 gram yang diperoleh dari Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) RI. Pada masa pemeliharaan, mencit diberikan *pre-enrichment* berupa dosis tunggal anthelmintik Combantrin[®] (pirantel pamoat 10 mg/kg BB), antibiotik Claneksi[®] (*amoxicillin* dan *clavulanic acid* 25 mg/kg BB) selama 5 hari berturut-turut, dan antiprotozoa Flagyl[®] (metronidazol 30 mg/kg BB) selama 3 hari berturut-turut.

Materi penginduksi skleroderma yang digunakan adalah bleomisin. Bleomisin hidroklorida (Bleocin[®] 15 mg, Kalbe Farma, Jakarta, Indonesia) konsentrasi 1 mg/ml yang diinjeksikan pada kulit bagian punggung secara SC sebanyak 100 µL/hari pada kelompok perlakuan II (BLM) dan IV (BLM+CMN) selama 28 hari berturut-turut.

Kurkumin yang digunakan adalah berupa zat aktif. Zat aktif kurkumin (Biopurify, Chengdu, China) dilarutkan dalam 0.5% *carboxymethylcellulose* (CMC), kemudian diberikan melalui injeksi intraperitoneal (IP) dengan dosis 100 mg/kg bobot badan yang diberikan pada kelompok perlakuan III (CMN) dan IV (BLM+CMN) setiap harinya

selama 28 hari.

Sebanyak 16 ekor mencit jantan galur *ddy* dibagi dalam 4 kelompok perlakuan: (I) kontrol, menerima injeksi 100 µl aquadest steril secara SC, (II) bleomisin (BLM), menerima injeksi 100 µl bleomisin 1 mg/ml secara SC, (III) kurkumin (CMN), menerima injeksi 100 µl aquadest steril secara SC dan 100 mg/kg BB kurkumin dalam 0,5% carboxymethylcellulose (CMC) secara IP, dan (IV) BLM+CMN, menerima injeksi 100 µl bleomisin 1 mg/ml yang secara SC dan 100 mg/kg BB kurkumin dalam 0,5% CMC secara IP. Seluruh mencit diberi tanda pada bagian punggung sebagai tempat lokasi penyuntikan SC aquadest (kelompok I) dan bleomisin (kelompok II dan IV). Penyuntikan aquadest dan bleomisin dilakukan pada tempat yang sama selama 28 hari. Seluruh perlakuan diberikan setiap hari selama 4 minggu dan dilakukan penimbangan bobot badan pada hari ke 0, 7, 14, 21, dan 28. Pada hari ke-29 mencit diterminasi dengan cara diberikan Ketamin HCl overdosis sebanyak 0.2 ml/hewan (AVMA 2013). Sampel yang diambil adalah kulit bagian punggung lokasi tempat penyuntikan SC. Sampel kemudian diolah menjadi preparat histologi dengan menggunakan pewarnaan hematoksilin-eosin (HE) untuk diamati perubahan struktur jaringan kulit lokasi penyuntikan bleomisin.

Data kuantitatif selanjutnya dianalisis dengan menggunakan ANOVA dan disajikan dalam bentuk

rataan dan standar deviasi. Uji Duncan dipakai untuk mengetahui adanya perbedaan signifikan ($p < 0,05$)

diantara masing-masing kelompok perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada kelompok I (kontrol negatif) terjadi kenaikan bobot badan harian secara konstan, akan tetapi hasil yang berbanding terbalik terjadi pada kelompok II (BLM) yaitu penurunan bobot badan yang signifikan terjadi semenjak perlakuan di hari ke-12. Selain itu, pada kelompok III (CMN) terjadi peningkatan bobot badan yang konstan setiap hari dan signifikan berbeda dengan tiga kelompok perlakuan lainnya yaitu dimulai pada hari ke-8. Hasil pada kelompok IV (BLM+CMN) menunjukkan terjadinya fluktuasi bobot badan dan berbeda signifikan terhadap tiga kelompok lainnya pada perlakuan hari-28. Hasil pengukuran bobot badan pada setiap kelompok perlakuan disajikan pada Tabel 1.

Penurunan bobot badan pada kelompok II (BLM) mungkin disebabkan oleh aplikasi bleomisin yang menyebabkan peradangan. Singh *et al.* (2019) melaporkan bahwa bleomisin dapat menstimulasi sel endotel, makrofag, dan fibroblast untuk menginduksi mediator radang, apoptosis, dan radikal bebas. Aplikasi bleomisin memungkinkan terjadinya gangguan metabolisme karbohidrat yang berakibat pada defisiensi nutrisi yang akhirnya menyebabkan penurunan bobot badan (Cowley *et al.* 2019). Yamamoto & Katayama

(2011) melaporkan bahwa penurunan bobot badan disebabkan aktivitas bleomisin yang menyebabkan stimulasi apoptosis dan radikal bebas. Cowley *et al.* (2019) melaporkan bahwa aplikasi bleomisin menyebabkan terjadinya penurunan *body scoring condition* (BCS) yang berhubungan dengan hilangnya masa otot dan lemak sistemik. Pemberian bleomisin menyebabkan penurunan massa soleus dan *visceral epididymal fat* (VEF) yang menandakan adanya pengecilan otot rangka dan lemak secara signifikan.

Pemberian kurkumin pada kelompok perlakuan III (CMN) menyebabkan peningkatan bobot badan yang berjalan konstan, sedangkan pada kelompok IV (BLM+CMN) bobot badan berfluktuasi namun berbeda signifikan dengan kelompok II (BLM) dimulai pada hari ke-24. Hasil ini sejalan dengan laporan penelitian Mohamad *et al.* (2021) bahwa aplikasi kurkumin dapat membantu proses penyerapan nutrisi terutama metabolisme protein dan energi untuk pembentukan daging pada ayam. Kurkumin yang membantu proses pencernaan makanan di dalam lambung dan imunomodulator. Kandungan kurkumin dan minyak atsiri dapat mengaktifasi proses metabolisme enzimatik pada tubuh

ayam, sehingga mampu mempercepat proses pengosongan lambung dan menstimulasi timbul rasa lapar. Selain itu, kurkumin diketahui dapat memperlancar produksi cairan empedu untuk meningkatkan aktivitas pencernaan.

Bleomisin akan menstimulasi

radikal bebas dan apoptosis. Aktivitas antioksidan dari kurkumin mampu mencegah pembentukan produk oksidasi yang toksik di dalam tubuh, bahkan kurkumin memiliki aktivitas sebagai antioksidan yang sama kuatnya dengan asam askorbat (Assouri *et al.* 2013).

Tabel 1. Tabel bobot badan mencit pada setiap kelompok perlakuan

| Hari ke- | Kelompok Perlakuan | | | |
|----------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|
| | I | II | III | IV |
| 0 | 29.75±2.01 ^a | 29.25±2.05 ^a | 29.94±2.07 ^a | 29.54±2.03 ^a |
| 4 | 30.75±2.36 ^a | 29.00±2.16 ^a | 32.75±3.20 ^a | 30.00±2.45 ^a |
| 8 | 31.25±1.50 ^a | 28.25±2.50 ^a | 36.00±3.37 ^b | 30.50±2.65 ^a |
| 12 | 32.00±1.41 ^a | 28.00±2.16 ^b | 37.00±3.16 ^c | 28.50±2.08 ^{ab} |
| 16 | 32.25±1.89 ^a | 27.75±2.22 ^b | 37.50±2.38 ^c | 29.00±2.16 ^{ab} |
| 20 | 32.50±2.52 ^a | 27.75±2.06 ^b | 38.25±2.63 ^c | 31.25±3.30 ^{ab} |
| 24 | 33.25±2.50 ^a | 27.00±2.16 ^b | 38.75±2.63 ^c | 32.25±2.87 ^a |
| 28 | 33.75±1.71 ^a | 25.50±1.91 ^b | 40.00±2.71 ^c | 29.75±2.63 ^d |

Catatan: perbedaan huruf *superscripts* pada baris yang sama menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0.05$)

Pada hasil pemeriksaan histopatologi jaringan kulit dengan pewarnaan HE untuk kelompok I (kontrol negatif) (Gambar 1A) dan kelompok III (CMN) (Gambar 1C) terlihat gambaran normal struktur organ kulit, yaitu adanya struktur lemak intradermal dan folikel rambut normal. Sebaliknya, pada kelompok II (BLM) (Gambar 1B) terlihat penebalan pada lapisan epidermis, atrofi folikel rambut atau hilangnya struktur folikel rambut disertai dengan atrofi lemak intradermal dan infiltrasi sel radang. Pada kelompok IV (BLM+CMN) (Gambar 1D) masih terlihat adanya struktur folikel rambut

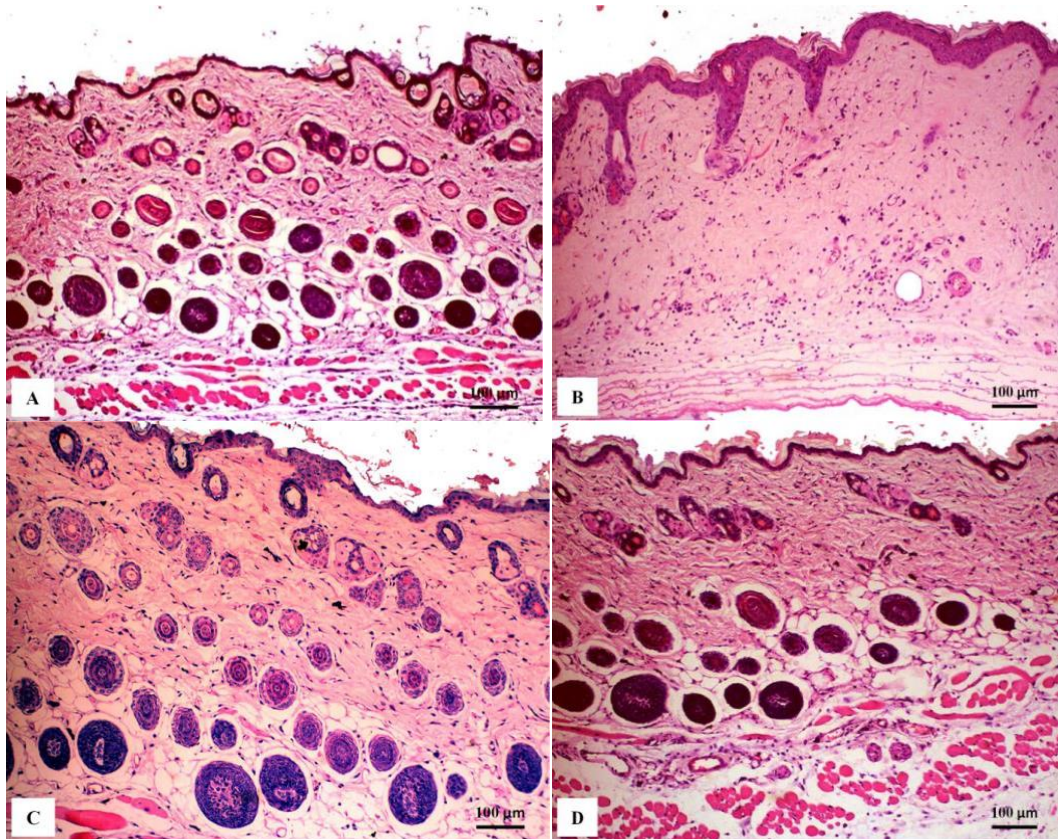
dan lemak intradermal walaupun dalam jumlah yang lebih sedikit dibanding kelompok kontrol. Selain itu, terdapat juga infiltrasi sel radang.

Bleomisin merupakan agen kemoterapi yang dapat menghambat proses mitosis pada fase anagen atau fase pertumbuhan folikel rambut. Selain itu, bleomisin menjadi stimulus pelepasan sitokin yang menstimulasi produksi TGF- β yang dapat menginduksi apoptosis pada siklus rambut manusia (Yamamoto *et al.* 2011).

Juniantito *et al.* (2013) melaporkan bahwa pada tikus yang diinduksi skleroderma dengan

bleomisin terjadi penebalan kolagen yang homogen di bagian dermis, adanya lesio skleroderma, reaksi peradangan berupa infiltrasi sel makrofag dan atrofi folikel rambut, serta hilangnya adnexa di bagian bawah dermis. Fibrosis skleroderma diatur oleh sitokin inflamasi yang disekresikan oleh makrofag (Tuledo & Pioli 2019). Aktivasi makrofag yang diatur oleh sitokin mengarah pada diferensiasi 2 tipe makrofag

yaitu tipe M1 dan M2. Makrofag M1 menghasilkan mediator proinflamasi seperti $\text{TNF-}\alpha$, $\text{IL-1}\beta$, dan IL-12 . Sebaliknya makrofag M2 menghasilkan sitokin anti-inflamasi seperti $\text{TGF-}\beta$ yang merangsang diferensiasi fibroblast menjadi myofibroblast. Myofibroblast akan menghasilkan kolagen dan menyebabkan terjadinya fibrosis (Valenzi *et al.* 2019).



Gambar 1. Struktur histologi jaringan kulit tempat lokasi penyuntikan bleomisin pada setiap kelompok perlakuan (A) kelompok I (kontrol negatif); (B) kelompok II (BLM); (C) kelompok III (CMN); dan (D) kelompok IV (BLM+CMN).

Kurkumin dilaporkan dapat meningkatkan ekspresi *cathepsin-K* dan *cathepsin-L* yang diketahui mampu menekan proliferasi fibroblast dan laju apoptosis (Zhang

et al. 2011). Zhang *et al.* (2012) turut melaporkan bahwa kurkumin mampu menghambat proliferasi sel, menginduksi apoptosis, dan mengganggu siklus sel kolagen tipe I

dan III sehingga laju pertumbuhan kolagen dapat dihambat. Efek anti inflamasi dari kurkumin dilaporkan oleh Supriono *et al.* (2018) bahwa kurkumin berperan dalam mengurangi TGF β -1 dan *platelet derived growth factor* (PDGF) sehingga menghambat fibrogenesis. Oleh karena itu, dimungkinkan bahwa kurkumin dapat menghambat fase katagen (apoptosis) pada siklus rambut dengan cara menghambat produksi TGF- β . Hal ini selaras dengan hasil pemeriksaan fisik penelitian ini yaitu kondisi rambut

yang normal (tidak terlihat kebotakan) pada kelompok IV yang diberi perlakuan injeksi kurkumin 100 mg/kg BB.

Mencit yang dipapar bleomisin akan memproduksi TGF- β akibat stimulasi dari sitokin (Kovacs & DiPietro 1994), sedangkan kurkumin akan menghambat kerja produksi TGF- β . Berdasarkan uraian di atas, ketika TGF- β dihambat, maka induksi terhadap fase katagen folikel rambut akibat bleomisin dapat dihambat pula.

KESIMPULAN

Kurkumin terbukti dapat menghambat fibrogenesis pada skleroderma, dan mampu mencegah

penurunan bobot badan pada mencit akibat induksi bleomisin.

DAFTAR PUSTAKA

- Asouri M, Ataee R, Ahmadi AA, Amini A, Moshaei MR. 2013. Antioxidant and free radical scavenging activities of curcumin. *Asian Journal Chemical* 25(13):7593-7595.
- Cowley PM, Roberts CR, Baker AJ. 2019. Monitoring the health status of mice with bleomycin-induced lung injury by using body condition scoring. *Comparative Medicine* 69(2): 95-102.
- Hemmati AA, Sistani KN, Dahanzadeh S, Sharif MB, Rezaie A. 2021. The protective effects of nebulized nano-curcumin against bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats. *Jundishapur J Nat Pharm Prod* 16(2): e106961. DOI: <https://doi.org/10.5812/jjnpp.106961>.
- Juniantito V, Izawa T, Yuasa T, Ichikawa C, Yano R, Kuwamura M, Yamate J. 2013. Immunophenotypical characterization of macrophages in rat bleomycin-induced scleroderma. *Vet Pathol.* 50(1):76-85. DOI: 10.1177/0300985812450718.
- Kovacs EJ, DiPietro LA. 1994. Fibrogenic cytokines and connective tissue production. *FASEB J* 8(11):854-861. DOI: 10.1096/fasebj.8.11.7520879.
- Kowalska-Kępczyńska A. 2022. Systemic scleroderma-definition, clinical picture and laboratory diagnostic. *Clinical Medicine* 11(9): 1-21. DOI: 10.3390/jcm11092299.

- Liang M, Lv J, Zou L, Yang W, Xiong Y, Chen X, Guan M, He R, Zou H. 2015. A modified murine model of systemic sclerosis: bleomycin given by pump infusion induced skin and pulmonary inflammation and fibrosis. *Laboratory Investigation* 95(3): 342-350. DOI: 10.1038/labinvest.2014.145.
- Matsushita M, Toshiyuki Y, Yokozeki H. 2008. Role of cytokines and proteases in murine scleroderma. *J Med Dent Sci* 55(3): 215-225.
- Mohamad S, Datau F, Laya NK. 2021. Evaluasi penambahan bobot badan, konsumsi dan konversi ransum ayam kampung super yang diberi tepung kunyit. *Jambura Journal of Animal Science* 3(2): 113-119.
- Pellegrino M, Bevacqua E, Frattaruollo L, Capello AR, Aquaro S, Tucci P. 2023. Enhancing the anticancer and anti-inflammatory properties of curcumin in combination with quercetin, for the prevention and treatment of prostate cancer. *Biomedicines* 11(7): 1-15.
- Peng Y, Ao M, Dong B, Jiang Y, Yu L, Chen Z, Hu C, Xu R. 2021. Anti-inflammatory effects of curcumin in the inflammatory disease: status, limitations, and countermeasures. *Drug Des Devel Ther* 12(15): 4503-4525. doi: 10.2147/DDDT.S327378.
- Rahaman ST. 2018. Bleomycin: an overview on anti-cancer drug. *International Journal of Recent Advances in Multidisciplinary Research* 5(2): 3618-3622.
- Rahmi A, Setyono A, Juniantito V. 2015. Curcumin effect on bleomycin-induced pulmonary fibrosis in *Mus musculus*. *JITV* 20(2): 148-157.
- Singh D, Parihar AKS, Patel S, Sivastava S, Diwan P, Singh MR. 2019. Scleroderma: an insight into causes, pathogenesis and treatment strategies. *Pathophysiology* 26(2): 103-114.
- Supriono, Pratomo B, Kriestian M. 2018. Effects of curcumin against matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) and tissue inhibitor metalloproteinase-2 (TIMP-2) serum level on rat model of liver fibrosis resolution process. *The Indonesian Journal of Gastroenterology Hepatology Digestive Endoscopy* 19(1): 11-15.
- Toledo DM, Pioli PA. Macrophages in systemic sclerosis: novel insights and therapeutic implications. *Curr Rheumatol Rep* 21(7): 1-9. DOI: 10.1007/s11926-019-0831-z.
- Valenzi E, Bulik M, Tabib T, Morse C, Sembrat J, Bittar HT, Rojas M, Lafyatis R. 2019. Single-cell analysis reveals fibroblast heterogeneity and myofibroblasts in systemic sclerosis-associated interstitial lung disease. *Ann Rheumatic Disease* 78(10): 1379-1387.
- Yamamoto T, Katayama I. 2011. Vascular changes in bleomycin-induced scleroderma. *Int J Rheumatol*. Article ID 270938. doi: 10.1155/2011/270938.
- Zhang D, Huang C, Yang C, Liu RJ, Wang J, Niu J, Brömme D. 2011. Antifibrotic effects of curcumin are associated with overexpression of cathepsins K and L in bleomycin treated mice and human fibroblasts. *Respiratory Research* 12(154): 1-12.
- Zhang S, Gong Z, Li W, Wang X, Ling T. 2012. Antifibrotic effect of curcumin in TGF- β 1-induced myofibroblast from human oral mucosa. *Asian Pacific Journal Cancer Preview* 13(1): 289-294. DOI: 10.7314/apjcp.2012.13.1.289.