

# Efek kurkumin dan 4-n-propil kurkumin terhadap aktivitas glutation s-transferase liver tikus

## Effect of curcumin and 4-n-propyl curcumin on glutation s-transferase activity in rat liver

**Fitriyah Kusumawati<sup>1)</sup>, Sudibyo, M<sup>2)</sup>, dan Supardjan<sup>2)</sup>**

<sup>1)</sup> Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta

<sup>2)</sup> Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada

### Abstrak

Kurkumin merupakan senyawa fenol alami dalam rhizoma *Curcuma longa*, L. telah dilaporkan sebagai inhibitor kuat terhadap aktivitas glutation S-transferase (GST) liver tikus *in vitro* dengan substrat 1,2-dikloro-4-dinitrobenzen (DCNB) yang merupakan substrat spesifik untuk GST klas mu. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui apakah senyawa turunan kurkumin: 4-n-propil kurkumin juga mampu menghambat aktivitas GST liver tikus *in vitro*.

Aktivitas GST ditentukan menggunakan reaksi konjugasi antara GSH dengan DCNB yang dikatalisis oleh enzim GST. Produk konjugat yang terbentuk diukur secara spektrofotometri

Hasil yang diperoleh menunjukkan adanya penurunan aktivitas GST akibat penambahan kurkumin dan 4-n-propil kurkumin dengan nilai IC<sub>50</sub> berturut-turut 6,86 dan 8,41 μM, sehingga dapat dikatakan 4-n-propil kurkumin mempunyai kekuatan penghambatan yang lebih lemah dibanding kurkumin, walaupun tidak terlalu jauh berbeda.

Pada konsentrasi 10 μM, Kurkumin mempunyai tipe penghambatan campuran, dengan nilai K<sub>i</sub> dan K'<sub>i</sub> sebesar 2,77 μM dan 7,33 μM sedangkan 4-n-propil kurkumin mempunyai tipe penghambatan kompetitif dengan nilai K<sub>i</sub> 6,28 μM.

**Kata kunci :** Kurkumin, 4-n-propil kurkumin, glutathione S-transferase, 1,2-dikloro-4-dinitrobenzen.

### Abstract

Curcumin, a plant phenol in rhizome *Curcuma longa* L. has been reported to be a potent inhibitor of glutathione S-transferase (GST) in rat liver with *in vitro* with substrate 1,2-dikloro-4-nitrobenzen (DCNB). By using DCNB, a specific substrate for GST mu, This work was aimed to know whether curcumin derivatives: 4-n-propyl curcumin can also inhibit GST activity *in vitro*.

Glutathione activity can be measured by conjugating GSH and DCNB catalized with GST. The product can be measured spectrophotometrically.

Curcumin and its derivatives decreased GST activities with IC<sub>50</sub> values 6,86 μM for curcumin and 8,41 μM for 4-n-propyl curcumin. This means that 4-n-propyl curcumin has a weaker inhibition potency than curcumin.

Curcumin (concentration 10μM) inhibited GST activity by mixed with the K<sub>i</sub> dan K'<sub>i</sub> values 2,77 μM dan 7,33 μM, whereas 4-n-propyl curcumin (concentration 10μM) inhibited GST activity by competitive with the K<sub>i</sub> values 6,28 μM.

**Key words :** Curcumin, 4-n-propyl curcumin, glutathione S-transferase, 1,2-dikloro-4-nitrobenzen.

## Pendahuluan

Dalam beberapa kasus tumor, diketahui terjadi peningkatan konsentrasi Glutation-S-Transferase (GST), sehingga mempercepat biotransformasi obat anti-tumor yang bersifat elektrofilik dengan cara meningkatkan reaksi konjugasi antara GSH dengan obat tersebut (Commandeur dkk., 1995). Akibatnya, obat antitumor tersebut menjadi kurang optimal potensinya. Untuk mendukung keberhasilan terapi dalam penggunaan obat antitumor diperlukan suatu inhibitor aktivitas GST.

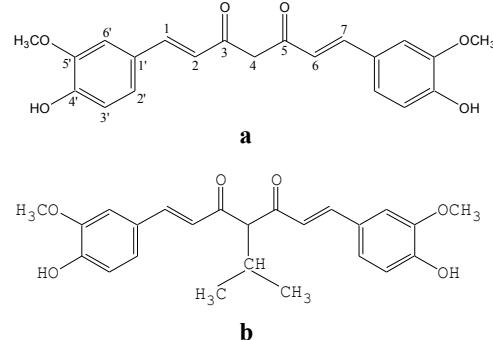
GST merupakan sekelompok enzim yang mengkatalisis reaksi konjugasi GSH dengan senyawa elektrofilik. Proses tersebut merupakan reaksi detoksifikasi yang penting untuk xenobiotik pada proses biotransformasi fase II.

Senyawa 1,2-dikloro-4-nitrobenzen (DCNB) dikenal sebagai substrat spesifik untuk GST kelas *mu* (Mannervik dan Danielson, 1988). Pada reaksi konjugasi antara DCNB dengan GSH yang dikatalisis GST, atom C<sub>i</sub> pada posisi *para* dari DCNB digantikan posisinya oleh anion tiolat dari GSH menghasilkan konjugat glutation yang dapat diukur serapannya secara spektrofotometri (Habig dkk., 1974).

Senyawa-senyawa fenol dalam tanaman dapat menghambat aktivitas GST *liver* tikus secara *in vitro* dengan substrat 1-kloro-2,4-dinitrobenzen (CDNB) (Das dkk., 1984). Kurkumin merupakan senyawa fenol alami dalam rhizoma *Curcuma longa*, L. telah terbukti mampu menghambat aktivitas GST *liver* tikus *in vitro* dengan CDNB (Sudibyo, 1996) maupun DCNB (Sudibyo, 1997). Sebanyak 9 turunan kurkumin yang berbeda pada gugus yang terikat inti benzene, telah terbukti memiliki kemampuan menghambat enzim GST yang diisolasi dari tikus normal (tanpa perlakuan), tikus dengan induksi fenobarbital,  $\beta$ -naftoflavon dan pyrazol baik dengan substrat CDNB maupun DCNB menunjukkan aktivitas penghambatan yang bervariasi (Sudibyo, 2000). Juga dilaporkan bahwa bagian tengah dari struktur kurkumin lebih berperan dalam penghambatan aktivitas GST dibandingkan dengan substituen pada kedua cincin aromatis dari struktur kurkumin (Sudibyo, 1999; Sudibyo, 2000).

Dengan adanya kemiripan struktur antara kurkumin dan 4-n-propil kurkumin (yaitu kurkumin yang pada bagian metilen aktifnya disubstitusi dengan gugus propil) (Supardjan, 1998) diduga juga mempunyai efek penghambatan terhadap aktivitas GST *liver* tikus dalam reaksi konjugasi antara GSH dengan DCNB.

Untuk membuktikan dugaan di atas, maka dilakukan penelitian terhadap 4-n-propil kurkumin dengan pembanding kurkumin terhadap aktivitas GST.



Gambar 1. a. Kurkumin, b. 4-n-propil kurkumin

## Metodologi

### Bahan

Kurkumin (hasil sintesis Sudibyo) dan 4-n-propil kurkumin (hasil sintesis Supardjan); GSH, dimetil sulfoksida (DMSO), etanol, kalium dihidrogen fosfat, dikalium hidrogen fosfat (p.a Merck); DCNB (Aldrich); coomassie brilliant blue G-250 (Bio-rad); bovine serum albumin (BSA) (Sigma); tikus putih jantan (strain Wistar), dan aquades.

### Alat

Spektrofotometer Genesys 5 (Milton Roy), pH meter (TOA HM-60S), ultrasentrifuga (Hitachi SCP 85 H), delivery pipet (Gilson), neraca elektrik (Shimadzu type LM-20, capacity 200 g, readability 0,01 mg), stopwatch, dan alat-alat gelas yang lazim digunakan di laboratorium analisis.

### Jalannya Penelitian

#### Penyiapan fraksi sitosol liver tikus yang mengandung GST

Tikus jantan (strain Wistar, berat 200-220 g) sebanyak 5 ekor dibunuh dengan cara mematahkan tulang belakang pada bagian leher, diambil livernya dan dimasukkan ke dalam bufer fosfat ( $K_2HPO_4/KH_2PO_4$ ) dingin pH 7,5 kemudian ditimbang dan dihomogenkan dengan blender

dingin. Homogenat *liver* ditambah sebagian bufer fosfat sebagai pengencer, diultrasentrifugasi dengan kecepatan 10.000x g selama 25 menit. Endapan yang diperoleh dibuang dan supernatannya disentrifugasi lagi dengan kecepatan 105.000x g selama 90 menit. Supernatannya yang diperoleh merupakan fraksi sitosol yang mengandung GST. Fraksi sitosol disimpan pada suhu -80 °C sampai saat digunakan.

#### **Penetapan kadar protein fraksi sitosol yang mengandung GST**

Penetapan dilakukan secara spektrofotometri menggunakan bovine serum albumin (BSA) sebagai banding (Bradford, 1976). Prosedur penetapannya adalah sebagai berikut: 1 ml Bio-rad:aquades (1:4) + 20 µl fraksi sitosol, setelah 5 menit serapan dibaca pada  $\lambda$  595 nm terhadap blangko Bio-rad enceran.

#### **Penentuan aktivitas enzim GST liver tikus**

Digunakan campuran inkubasi (modifikasi Habig dkk., 1974) sebagai berikut: Bufer fosfat 0,1 M pH 7,5 (647,45 µl), fraksi sitosol (kadar protein tertentu) (17,5 µl), GSH 50 mM (larutan dalam aqua) (75 µl), DCNB 50 mM (larutan dalam etanol) (10,05 µl). Produk konjugat yang terbentuk diukur serapannya pada  $\lambda$  345 nm dari menit ke 0–3 menggunakan spektrofotometer (program *Simple kinetic*).

#### **Penentuan IC<sub>50</sub>**

Percobaan dilakukan seperti prosedur No.3, tetapi dengan penambahan inhibitor 7,5 µl (kurkumin atau turunannya yang dilarutkan dalam DMSO) pada 5 macam variasi konsentrasi. Setelah penambahan inhibitor, campuran diinkubasi selama 4 menit pada suhu kamar dan terlindung dari cahaya.

#### **Studi kinetik untuk menetapkan harga V<sub>maks</sub>, K<sub>m</sub>, K<sub>i</sub>, dan tipe inhibisi**

Dilakukan percobaan seperti pada 3 tetapi tanpa inhibitor dan dengan inhibitor (satu macam konsentrasi di sekitar IC<sub>50</sub>) dengan menggunakan 6 macam variasi konsentrasi DCNB.

#### **Analisis Hasil**

Data yang diperoleh berupa  $\Delta$  serapan/menit digunakan untuk menghitung parameter-parameter kinetik yang terdiri dari :

##### **a. IC<sub>50</sub>**

Nilai IC<sub>50</sub> diperoleh dari persamaan regresi linier yang menyatakan hubungan antara konsentrasi inhibitor dengan % inhibisi.

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{V_{\text{tanpa inhibitor}} - V_{\text{dengan inhibitor}}}{V_{\text{tanpa inhibitor}}} \times 100\%$$

Keterangan:

V = Kecepatan pembentukan produk konjugat

V = Rate/ $\Delta\epsilon_{GS-CNB}$ /kadar protein dalam campuran inkubasi

#### **b. Studi kinetik**

Nilai V<sub>maks</sub>, K<sub>m</sub>, K<sub>i</sub>, dan tipe inhibisi dievaluasi dari kurva Lineweaver-Burk. Nilai K<sub>i</sub> diperoleh dengan menggunakan rumus dari Cai dkk. (1993) (Tabel I).

Tabel I. Rumus untuk menghitung nilai K<sub>i</sub> berdasarkan tipe inhibisi

| Tipe Inhibisi    | Rumus  |
|------------------|--|
| Kompetitif       | $K_i = \frac{K_m \cdot [I]}{(K_m^* - K_m)}$  |
| Non-kompetitif   | $K_i = \frac{V_{maks}^* \cdot [I]}{(V_{maks} - V_{maks}^*)}$                                 |
| Campuran (Mixed) | $K_i = \frac{V_{maks}^* \cdot K_m \cdot [I]}{(K_m^* \cdot V_{maks} - V_{maks}^* \cdot K_m)}$ |
|                  | $K_i' = \frac{V_{maks}^* \cdot [I]}{(V_{maks} - V_{maks}^*)}$                                |

#### **Catatan:**

a. K<sub>m</sub> dan V<sub>maks</sub> diperoleh dari percobaan tanpa inhibitor.

b. K<sub>m</sub>\* dan V<sub>maks</sub>\* diperoleh dari percobaan dengan inhibitor.

c. [I] = konsentrasi inhibitor (kurkumin atau 4-n-propil kurkumin)

#### **Hasil Dan Pembahasan**

Penentuan aktivitas GST dilakukan untuk mengetahui seberapa besar aktivitas GST dalam mengkatalisis reaksi konjugasi antara GSH dengan DCNB tanpa adanya inhibitor. Adanya aktivitas spesifik GST ditunjukkan dengan kecepatan pembentukan produk konjugat. Aktivitas GST dalam mengkatalisis reaksi konjugasi antara DCNB dengan GSH memberikan *rate* (kecepatan pembentukan produk konjugat) sebesar 0,072-0,120 per menit. Aktivitas spesifik enzim GST (V) dihitung dengan cara sebagai berikut: *rate* = 0,111 serapan/menit;  $\epsilon_{GS-CNB} = 8,5 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ; kadar protein dalam campuran inkubasi = 0,58 mg/ml.

$$\begin{aligned}
 V &= \text{rate}/\epsilon_{\text{GS-CNB}} \cdot b / \text{kadar protein dalam campuran inkubasi} \\
 &= 0,111/8,51/0,58 \mu\text{mol/min/mg prot.} \\
 &= 0,02251 \mu\text{mol/min/mg prot.} \\
 &= 22,51 \text{ nmol/min/mg prot.}
 \end{aligned}$$

Pada penelitian ini, tidak dilakukan pemurnian terhadap fraksi sitosol yang mengandung GST yang digunakan, sehingga tidak mungkin dapat ditentukan jumlah mikrogram enzim murni. Oleh karena itu aktivitas enzim dinyatakan dalam nanomol dari produk konjugat yang dihasilkan per menit per miligram protein fraksi sitosol (enzim GST) yang terkandung dalam medium akhir inkubasi.

Hasil penentuan  $IC_{50}$  (konsentrasi inhibitor kurkumin dan kedua turunannya yang menghasilkan 50% penghambatan aktivitas enzim GST *liver* tikus) senyawa kurkumin, 4-n-propil kurkumin disajikan pada tabel II dan III.

Tabel II. Hasil penentuan  $IC_{50}$  kurkumin pada reaksi konjugasi DCNB dengan GSH yang dikatalisis GST

| No | Kurkumin ( $\mu\text{M}$ ) | Rate*<br>( $\Delta$ serapan/min) | V<br>(nmol/min/mg prot) | % inhibisi | $IC_{50}^{**}$<br>( $\mu\text{M}$ ) |
|----|----------------------------|----------------------------------|-------------------------|------------|-------------------------------------|
| 1. | 0                          | 0,101                            | 20,487                  |            | 6,04<br>$r = 0,995$                 |
| 2. | 2                          | 0,061                            | 12,373                  | 39,61      |                                     |
| 3. | 5                          | 0,052                            | 10,548                  | 48,51      |                                     |
| 4. | 10                         | 0,040                            | 8,114                   | 60,39      |                                     |
| 5. | 15                         | 0,031                            | 6,288                   | 69,31      |                                     |

Tabel III. Hasil penentuan  $IC_{50}$  4-n-propil kurkumin pada reaksi konjugasi DCNB dengan GSH yang dikatalisis GST

| No. | 4-n-propil Kurkumin ( $\mu\text{M}$ ) | Rate*<br>( $\Delta$ serapan/min) | V<br>(nmol/min/mg prot) | % inhibisi | $IC_{50}^{**}$<br>( $\mu\text{M}$ ) |
|-----|---------------------------------------|----------------------------------|-------------------------|------------|-------------------------------------|
| 1.  | 0                                     | 0,115                            | 23,327                  |            | 8,87<br>$r = 0,996$                 |
| 2.  | 2                                     | 0,080                            | 16,227                  | 30,44      |                                     |
| 3.  | 5                                     | 0,071                            | 14,402                  | 38,26      |                                     |
| 4.  | 10                                    | 0,056                            | 11,359                  | 51,31      |                                     |
| 5.  | 15                                    | 0,035                            | 7,099                   | 69,57      |                                     |

Keterangan tabel II-IV:

Konsentrasi akhir DCNB = 0,670 mM

V = produk konjugasi DCNB dengan GSH

\* = nilai tersebut diperoleh dari rata-rata 3 kali percobaan

\*\* = nilai  $IC_{50}$  diperoleh menggunakan persamaan garis regresi linier (konsentrasi inhibitor vs % inhibisi yang dihasilkan)

Semakin kecil harga  $IC_{50}$  dari suatu senyawa, semakin besar potensi penghambatannya. Dari nilai  $IC_{50}$  nya, dapat diketahui bahwa 4-n-propil kurkumin mempunyai kemampuan penghambatan aktivitas GST *liver* tikus hampir sama dengan kekuatan penghambatan kurkumin, dengan kekuatan penghambatan 0,7 kali kekuatan penghambatan kurkumin. Dapat dikatakan bahwa substitusi atom H pada posisi C<sub>4</sub>  $\beta$ -diketon kurkumin dengan gugus propil yang merupakan gugus pendorong elektron tidak memberikan banyak pengaruh terhadap kekuatan penghambatan terhadap GST bila dibandingkan dengan senyawa induknya, yakni kurkumin.

Tabel IV. Data studi kinetik kurkumin

| [S]<br>(mM) | 1/[S]<br>(mM <sup>-1</sup> ) | Rate* |       | V      |       | 1/V   |       |
|-------------|------------------------------|-------|-------|--------|-------|-------|-------|
|             |                              | 0 μM  | 10 μM | 0 μM   | 10 μM | 0 μM  | 10 μM |
| 1,000       | 1,0                          | 0,138 | 0,040 | 27,992 | 8,114 | 0,036 | 0,123 |
| 0,670       | 1,5                          | 0,120 | 0,032 | 24,341 | 6,491 | 0,041 | 0,154 |
| 0,500       | 2,0                          | 0,104 | 0,028 | 21,095 | 5,680 | 0,047 | 0,176 |
| 0,400       | 2,5                          | 0,082 | 0,024 | 16,633 | 4,868 | 0,060 | 0,205 |
| 0,330       | 3,0                          | 0,075 | 0,020 | 15,213 | 4,057 | 0,066 | 0,247 |
| 0,285       | 3,5                          | 0,072 | 0,017 | 14,604 | 3,448 | 0,068 | 0,290 |

| Regresi linier 1/[S] vs 1/V             |                     |                     |
|---|---------------------|---------------------|
| Keterangan                              | Kurkumin 0 μM       | Kurkumin 10 μM      |
| Persamaan garis regresi                 | y = 0,014 X + 0,022 | y = 0,065 X + 0,015 |
| r                                       | 0,983               | 0,992               |
| V <sub>maks</sub> (nmol/min/mg protein) | 45,45               | 19,23               |
| K <sub>m</sub> (mM)                     | 0,64                | 1,25                |

Tabel V. Data studi kinetik 4-n-propil kurkumin

| [S]<br>(mM) | 1/[S]<br>(mM <sup>-1</sup> ) | Rate* |       | V      |        | 1/V   |       |
|-------------|------------------------------|-------|-------|--------|--------|-------|-------|
|             |                              | 0 μM  | 10 μM | 0 μM   | 10 μM  | 0 μM  | 10 μM |
| 1,000       | 1,0                          | 0,124 | 0,070 | 25,152 | 14,200 | 0,039 | 0,070 |
| 0,670       | 1,5                          | 0,105 | 0,055 | 21,298 | 11,156 | 0,047 | 0,090 |
| 0,500       | 2,0                          | 0,083 | 0,049 | 16,836 | 9,939  | 0,059 | 0,100 |
| 0,400       | 2,5                          | 0,073 | 0,038 | 14,807 | 7,708  | 0,068 | 0,130 |
| 0,330       | 3,0                          | 0,070 | 0,035 | 14,200 | 7,100  | 0,070 | 0,141 |
| 0,285       | 3,5                          | 0,060 | 0,027 | 12,170 | 5,477  | 0,082 | 0,183 |

| Regresi linier 1/[S] vs 1/V             |                          |                           |
|---|--------------------------|---------------------------|
| Keterangan                              | 4-n-propil kurkumin 0 μM | 4-n-propil kurkumin 10 μM |
| Persamaan garis                         | y = 0,017 x + 0,023      | y = 0,043 x + 0,023       |
| r                                       | 0,989                    | 0,981                     |
| V <sub>maks</sub> (nmol/min/mg protein) | 43,17                    | 43,80                     |
| K <sub>m</sub> (mM)                     | 0,72                     | 1,87                      |

Keterangan :

V = aktivitas spesifik enzim GST

\* = nilai tersebut diperoleh dari rata-rata 3 kali percobaan

Konsentrasi akhir GSH = 5 mM

Kadar protein dalam campuran = 0,58 mg/ml

Regresi linear 1/[S] vs 1/V menghasilkan persamaan Lineweaver-Burk :

$$\frac{1}{V} = \frac{K_m}{V_{maks}} \times \frac{1}{S} + \frac{1}{V_{maks}}$$

**Studi Kinetik**

Hasil studi kinetik dapat dilihat pada tabel IV-V.

Dari persamaan yang diperoleh, dapat ditentukan nilai V<sub>maks</sub>, K<sub>m</sub>, K<sub>i</sub>, (tabel VI) dengan menggunakan rumus dari Cai dkk. (1993), dan dari kurva Lineweaver-Burk (gambar 2) dapat diketahui tipe inhibisinya (Metzler, 1977).

Dari tabel VI terlihat bahwa dengan adanya inhibitor menyebabkan kenaikan harga

K<sub>m</sub> kurang lebih sebesar 2 kali pada kurkumin dan 2,6 kali pada 4-n-propil kurkumin. Dari hasil ini terbukti bahwa dengan adanya inhibitor akan menurunkan afinitas substrat terhadap enzim.

Kurva Lineweaver-Burk untuk senyawa kurkumin menunjukkan bahwa senyawa tersebut mempunyai tipe inhibisi campuran. Adanya inhibitor akan menurunkan harga V<sub>maks</sub> tetapi menaikkan harga K<sub>m</sub>. Senyawa 4-n-propil

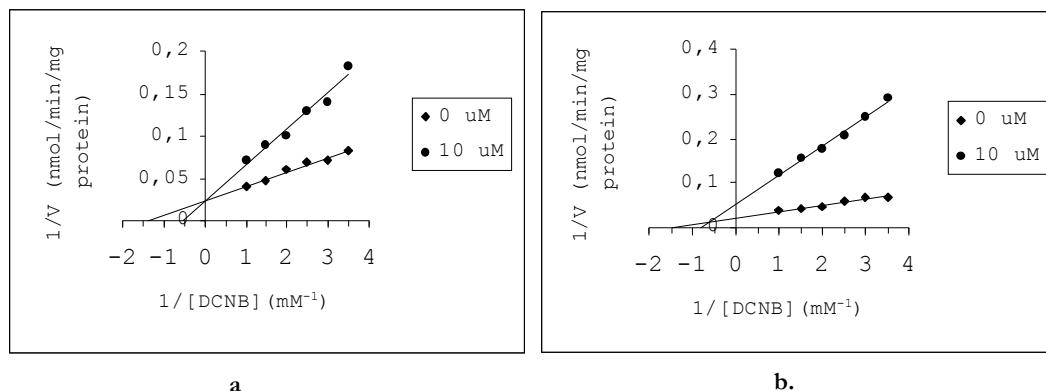
Tabel VI. Nilai  $V_{\text{maks}}$ ,  $K_m$ , dan  $K_i$  dan tipe inhibisi kurkumin dan 4-n-propil kurkumin.

| Inhibitor              |                  | $V_{\text{maks}}$<br>(nmol/min/mg prot) | $K_m$<br>(mM) | Tipe<br>Inhibisi | $K_i$<br>( $\mu\text{M}$ ) | $K_i'$<br>( $\mu\text{M}$ ) |
|------------------------|------------------|---|---------------|------------------|----------------------------|-----------------------------|
| Kurkumin               | 0 $\mu\text{M}$  | 45,45                                   | 0,64          | <i>Mixed</i>     | 2,77                       | 7,33                        |
|                        | 10 $\mu\text{M}$ | 19,23                                   | 1,25          |                  |                            |                             |
| 4-n-propil<br>kurkumin | 0 $\mu\text{M}$  | 43,17                                   | 0,72          | kompetitif       | 6,28                       | -                           |
|                        | 10 $\mu\text{M}$ | 43,80                                   | 1,87          |                  |                            |                             |

Keterangan :

Nilai  $K_m$  dan  $V_{\text{maks}}$  diperoleh dari kurva Lineweaver-Burk dari rata-rata 3 kali percobaan pada variasi konsentrasi DCNB dan konsentrasi GSH tetap.

Nilai tetapan inhibisi ( $K_i$ ) diperoleh dari kurva Lineweaver-Burk



Gambar 2. a. Kurva Lineweaver-Burk inhibisi kurkumin terhadap aktivitas GST  
b. Kurva Lineweaver-Burk inhibisi 4-n-propil kurkumin terhadap aktivitas GST

kurkumin mempunyai tipe inhibisi kompetitif dengan ciri nilai  $V_{\text{maks}}$  tanpa inhibitor tetap sama dengan nilai  $V_{\text{maks}}$  dengan adanya inhibitor, tetapi terlihat peningkatan harga  $K_m$ .

Nilai  $K_i$  menggambarkan daya hambat senyawa terhadap aktivitas GST. Semakin kecil nilai  $K_i$ , semakin besar daya hambatnya terhadap aktivitas GST. Kurkumin dengan konsentrasi 10  $\mu\text{M}$  sebagai inhibitor dengan tipe inhibisi campuran aktivitas GST pada pembentukan produk konjugat GS-CNB mempunyai 2 nilai  $K_i$  yaitu 2,77  $\mu\text{M}$  dan  $K_i'$  sebesar 7,33  $\mu\text{M}$ , sedangkan 4-n-propil kurkumin (konsentrasi 10  $\mu\text{M}$ ) mempunyai tipe inhibisi kompetitif dengan nilai  $K_i$  sebesar 6,28  $\mu\text{M}$ .

## Kesimpulan

Senyawa kurkumin dan 4-n-propil kurkumin mempunyai efek penghambatan terhadap aktivitas GST *liver* tikus dengan substrat DCNB dengan nilai IC<sub>50</sub> kurkumin dan 4-n-propil kurkumin berturut-turut sebesar 8,41 dan 6,04;  $\mu\text{M}$ .

Kurkumin menunjukkan tipe inhibisi campuran dengan nilai  $K_i$  dan  $K_i'$  berturut-turut 2,77 dan 7,33  $\mu\text{M}$  pada konsentrasi inhibitor 10  $\mu\text{M}$ , sedangkan 4-n-propil kurkumin menunjukkan tipe inhibisi kompetitif dengan nilai  $K_i$  6,28  $\mu\text{M}$  (pada konsentrasi inhibitor 10  $\mu\text{M}$ )

## **Daftar Pustaka**

- Bradford, M.M., 1976, A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding, *Anal. Biochem.*, **72**, 248-254.
- Cai, P., Bennet, D., Nair, R.V., Ceska, O., Smith, M.J.A., and Giovanni, J.D., 1993, Inhibition and Inactivation of Murine Hepatic Ethoxy- and Pentoxyresorufin O-Dealkylase by Naturally Occuring Coumarins, *Chem. Res. Toxicol.*, **6**, 872-879.
- Commandeur, J.N.M., Stijntjes, G., and Vermeulen, N.P.E., 1995, Enzymes and Transport Systems Involved in The Formation and Disposition of Glutathione S-Conjugates, *Pharmacol. Rev.*, **47** (2), 271-330.
- Das, M., Bickers, D.R., and Mukhtar, H., 1984, Plant Phenols as *In Vitro* Inhibitors of Glutathione S-Transferase, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **120** (2), 427-433.
- Habig, W.H., Pabst, M.J., and Jakoby, W.B., 1974, Glutathione S-Transferase, the first enzymatic step in mercapturic acid formation, *J. Biol. Chem.*, **249** (22), 7130-7139.
- Mannervik, B. dan Danielson, V.H., 1988, Glutathione S-Transferase Structure and Catalytic Activity, *CRC. Crit. Rev. Biochem.*, **23**, 283-337.
- Metzler, D.E., 1977, *Biochemistry, the Chemical Reaction of Living Cells*, Academic Press, Inc., New York, p. 301-318.
- Sudibyo, M., 1996, Efek Hambatan Kurkumin dan Analognya pada Aktivitas Glutation S-Transferase Liver Tikus secara *in vitro*, *Majalah Farmasi Indonesia*, **7**, 31-51.
- Sudibyo, M., 1997, Studi Inhibisi Kurkumin terhadap Aktivitas Enzim Glutation S-Transferase Liver Tikus yang Diinduksi Fenobarbital, *Laporan Penelitian DPP-SPP*, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Sudibyo, M., 1999, Uji Penghambatan Aktivitas Glutation S-Transferase Liver Tikus oleh 2,5-bis-(4-hidroksi-3-metoksi benzilidin) siklopentanon dan dua analognya, *Lembaga Penelitian*, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Sudibyo, M., 2000, *Inhibition of glutathione S-transferase by curcumin and its derivatives, Molecular mechanisms and qualitative structure-activity relationships*, Dissertation, Gadjah Mada University, Yogyakarta, Indonesia.
- Supardjan, A. M., 1998, *Synthesis and Anti-inflammatory Activity of Some 4-substituted Curcumin Derivatives*, Dissertation, Gadjah Mada University, Yogyakarta.