



## Aktivitas Ramuan Herbal sebagai Antagonis Reseptor H1, Relaksan Otot Polos dan Penghambat Degranulasi Sel Mast sebagai Antiasmatik

### *The Activity of Herbs as H1 Receptor Antagonist, Smooth Muscle Relaxant, and Inhibitor of Mast Cell Degranulation as Antiasthmatics*

Galuh Ratnawati<sup>1\*</sup>, Kiki Damayanti<sup>2</sup>, Agung Endro Nugroho<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional, Karanganyar, Indonesia

<sup>2</sup>Bagian Farmakologi dan Farmasi Klinik, Fakultas Farmasi, Universitas Wahid Hasyim, Semarang, Indonesia

<sup>3</sup>Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia

\*E-mail: galuhratnagaluh@gmail.com

**Kata kunci:**  
Antiasmatik;  
Antagonis reseptor  
H1; Relaksan; Sel  
mast

**Keywords:**  
Antiasthmatic;  
H1 Receptor  
Antagonist;  
Relaxant; Mast cells

**Received:**  
22-03-2021

**Revised:**  
14-08-2021

**Accepted:**  
06-01-2022

**Jurnal Kefarmasian  
Indonesia,**  
2022;12(1):1-10

**DOI:**  
<https://doi.org/10.22435/jki.v12i1.4676>

### Abstrak

Asma masih menjadi permasalahan kesehatan masyarakat di seluruh dunia karena dapat menyerang segala usia mulai dari anak-anak sampai dewasa. Derajat keparahan asma bervariasi dari ringan sampai berat, bahkan dapat menimbulkan kematian. Pemanfaatan berbagai jenis tanaman obat sebagai antiasmatik telah sering dilakukan oleh masyarakat. Penelitian ini dilakukan secara *in vitro* dan *in vivo* untuk mengetahui aktivitas ramuan herbal yang terdiri dari simplisia daun sembung (*Blumea balsamifera* L.), buah kemukus (*Piper cubeba* L.), akar teki (*Cyperus rotundus* L.), dan herba patikan kebo (*Euphorbia hirta* L.) dengan perbandingan tertentu sebagai antiasmatik. Pengujian *in vitro* dilakukan menggunakan sel otot polos yang diisolasi dari trakea marmut. Histamin diberikan sebagai pemicu kontraksi sel otot polos pada trakea marmut. Pengujian *in vivo* dilakukan menggunakan marmut yang disensitisasi dengan ovalbumin dan diberi ramuan herbal antiasmatik. Trakea marmut dibuat preparat histopatologi dengan metode pewarnaan *toluidine blue* untuk pengamatan terhadap sel mast. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ramuan herbal antiasmatik 1, 2, dan 3 mempunyai aktivitas sebagai antagonis reseptor H1. Ramuan herbal antiasmatik 1, 2, dan 3 mampu merelaksasi otot polos trakea marmut yang mengalami kontraksi, namun tidak sekuat teofilin. Ramuan herbal antiasmatik dalam penelitian ini tidak memiliki aktivitas menghambat degranulasi sel mast.

### Abstract

*Asthma is still become a major health problem worldwide, affected all ages from pediatrics to adults. The severity of the disease vary from mild to severe and leads to the risk of death. The uses of medicinal plants as antiasthmatic have often been conducted by the local community. The present study was conducted in vitro and in vivo to determine the activities of herbs containing of sembung leaves (Blumea balsamifera L.), kemukus seeds (Piper cubeba L.), teki rhizome (Cyperus rotundus L.), and patikan kebo herbs (Euphorbia hirta L.) with certain ratio as an antiasthmatic. The in vitro test was carried out on isolated smooth muscle cells of guinea pig. Histamine was used to stimulate the contraction of smooth muscle cells of guinea pig trachea. The in vivo test was carried out using guinea pigs which sensitized with ovalbumin and administered with the herbs formula. The trachea of guinea pigs were prepared for histopathological examination and stained on toluidine blue. The result revealed that the antiasthmatic herbs of 1, 2, and 3 showed activities as H1 receptor antagonists. The antiasthmatic herbs of 1, 2, and 3 were able to relax the smooth muscle of guinea pig's trachea that was experiencing contraction, but in lower level compared to theophylline. The antiasthmatic herbs formula in this study did not have the activity to inhibit mast cell degranulation.*

## PENDAHULUAN

Asma adalah penyakit tidak menular yang ditandai dengan sesak napas dan mengi berulang. Tingkat keparahan dan frekuensi asma bervariasi untuk setiap orang dimana gejala klinis dapat terjadi beberapa kali dalam sehari atau seminggu. Serangan dapat menjadi lebih parah selama aktivitas fisik atau di malam hari pada sebagian orang.<sup>1</sup> Penderita asma di seluruh dunia diperkirakan mencapai 339 juta jiwa.<sup>2</sup> Prevalensi asma di Indonesia yaitu 2,4% dengan prevalensi tertinggi terjadi di provinsi Daerah Istimewa Yogyakarta (DIY) mencapai 4,5%.<sup>3</sup> Secara global, asma berada di peringkat ke-16 sebagai penyakit penyebab *years of lived with disability* (YLD) dan ke-28 di antara penyebab utama beban penyakit. Asma juga menjadi sumber utama beban ekonomi global dalam hal biaya.<sup>2</sup>

Asma yang bersifat kronis membutuhkan pengobatan dalam jangka waktu yang panjang, bahkan seumur hidup. Tingginya prevalensi dan panjangnya waktu pengobatan asma menjadikan beban ekonomi akibat asma menjadi tinggi pula. Pengobatan menggunakan bahan alam menjadi alternatif pengobatan asma dengan pertimbangan biayanya yang lebih rendah.

Daun sembung (*Blumea balsamifera* L.), buah kemukus (*Piper cubeba* L.), rimpang rumput teki (*Cyperus rotundus* L.), dan herba patikan kebo (*Euphorbia hirta* L.) dikenal masyarakat sebagai tanaman tradisional untuk asma. Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa keempat tanaman diatas secara individu memiliki aktivitas sebagai antiasma. Herba patikan kebo diketahui digunakan dalam ramuan Ayurveda untuk mengobati asma.<sup>4</sup> Herba patikan kebo dinyatakan aman berdasarkan uji toksisitas akut dan subkronik.<sup>5</sup> Terdapat empat komponen yang berhasil diisolasi dari buah kemukus, salah satunya adalah dihidrokubebin yang mempunyai efek trakeospasmolitik.<sup>6</sup> Valencene, nootkatone, dan caryophyllene  $\alpha$ -oxide yang diisolasi dari rimpang teki menunjukkan aktivitas antialergi secara in vitro dan in vivo.<sup>7</sup>

Ekstrak air herba patikan kebo dapat menghambat kontraksi trakea marmut yang diinduksi histamin secara parsial.<sup>8</sup> Pengkombinasian simplisia tersebut di atas diharapkan dapat memperkuat aktivitas masing-masing tanaman sebagai antiasma. Sebuah klinik herbal di Surakarta mengkombinasikan keempat tanaman dengan berbagai macam perbandingan dalam bentuk rebusan untuk menangani asma.

Paparan alergen yang berulang mengaktifkan sel B untuk memproduksi IgE. IgE menempel pada sel mast, sehingga terjadi degranulasi sel mast. Histamin merupakan salah satu mediator kimia yang dilepaskan oleh sel mast yang terdegranulasi. Reseptor histamin 1 (H1) pada sistem pernafasan yang berikatan dengan histamin menimbulkan kontraksi pada bronkus dan bronkokonstriksi. Salah satu strategi terapi asma adalah penghambatan ikatan antara histamin dengan reseptornya menggunakan antagonis histamin. Usaha mempertahankan sel mast agar tidak mengalami degranulasi menjadi salah satu cara penanganan asma. Kelompok obat yang bekerja untuk mencegah degranulasi sel mast dikenal dengan istilah *mast cell stabilizer*.<sup>9</sup>

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas ramuan herbal antiasmatik yang terdiri dari simplisia daun sembung, buah kemukus, rimpang rumput teki, dan herba patikan kebo sebagai antagonis reseptor H1 dan relaksan otot polos secara in vitro serta penghambat degranulasi sel mast secara in vivo.

## METODE

### Alat dan bahan

Alat yang digunakan dalam pembuatan simplisia tanaman adalah oven (Memmert, Jerman), moisture balance (Ohaus, Swiss), dan blender (Maspion, Indonesia). Pembuatan ramuan herbal antiasmatik menggunakan panci infusa (Maspion, Indonesia), penangas air (Memmert, Jerman), dan kain flanel untuk menyaring.

Alat pada uji in vitro terdiri dari

pengaduk magnetik termostat (B Braun, Jerman), pengatur suhu *organ bath*, transduser isotonik (Level Transduser tipe 368 HSE, Jerman), rekorder (Kipp and Zonen BBD 42, Netherlands), dua set *organ bath* (Radnoti, Amerika), dan *bridge amplifier* (tipe 336 HHS, Jerman). Alat bedah berupa gunting bedah dan *scalpel blade* digunakan untuk preparasi organ. Induksi asma pada marmut menggunakan nebulizer (Omron NE-C, Jepang).

Hewan uji yang digunakan penelitian adalah marmut (*Cavia porcellus*) jantan berumur lebih dari 3 bulan dengan berat badan 450 g - 600 g. Marmut diperoleh dari Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada (UGM), Yogyakarta. Marmut dipelihara dalam kandang tertutup, namun dikondisikan agar tetap memungkinkan terjadinya sirkulasi udara yang baik. Lantai kandang berupa papan diberi alas rerumputan yang sekaligus berfungsi sebagai makanannya. Penggantian alas dan air minum dilakukan sehari dua kali, yaitu pada pagi dan sore hari. Prosedur uji aktivitas yang melibatkan penggunaan marmut telah mendapatkan persetujuan etik / *ethical clearance* dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan nomor KE. 01.08/EC/583/2012 tanggal 10 Agustus 2012.

Daun sembung, buah kemukus, rimpang rumput teki, dan herba patikan kebo segar yang digunakan dalam penelitian diperoleh dari Laboratorium Pascapanen Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TOOT) Tawangmangu. Pemastian kebenaran keempat tanaman di atas dilakukan melalui proses determinasi oleh Laboratorium Pascapanen B2P2TOOT.

Bahan lain yang digunakan adalah buffer Krebs yang terdiri dari NaCl, KCl, MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O, NaHCO<sub>3</sub>, dan glukosa. Buffer Krebs dalam *organ bath* diaerasi dengan campuran oksigen 95% dan

karbondioksida 5%. Bahan kimia lainnya terdiri atas ovalbumin histamin dan Al(OH)<sub>3</sub>. Bahan obat yang digunakan sebagai pembanding yaitu difenhidramin HCl, teofilin dan ketotifen. Pewarna yang digunakan untuk mewarnai sel mast adalah *toluidine blue*.

## **Prosedur kerja**

### **Penyiapan ramuan herbal antiasmatik**

Daun sembung, buah kemukus, rimpang rumput teki, dan herba patikan kebo dibuat simplisia dengan cara dikeringkan dalam oven bersuhu 60°C hingga kadar airnya kurang dari 10%. Simplisia selanjutnya dibuat serbuk.

Ramuan herbal antiasmatik terdiri dari serbuk simplisia daun sembung, buah kemukus, rimpang rumput teki, dan herba patikan kebo yang dibuat dalam 3 perbandingan yang berbeda (Tabel 1)

**Tabel 1. Ramuan herbal asmatik**

Simplisia	Persentase komponen serbuk herbal antiasmatik (%)		
	1	2	3
Daun sembung	31,25	16	9
Buah kemukus	18,75	28	30,5
Rimpang rumput teki	18,75	22,5	24
Herba patikan kebo	31,25	33,5	36,5

Ramuan herbal antiasmatik dibuat sediaan infusa sesuai Farmakope Indonesia edisi III.<sup>10</sup> Sebanyak 10 g serbuk herbal antiasmatik dicampur dengan air hingga diperoleh volume 100 mL. Campuran dipanaskan di atas penangas air selama 30 menit pada suhu 90°C. Campuran yang sudah dingin disaring dengan kain flanel. Filtrat hasil saringannya dinamakan infusa 1. Ampas ditambah air panas secukupnya, lalu disaring. Hasil saringan ini dinamakan infusa 2. Infusa 1 kemudian ditambahkan infusa 2 hingga volumenya mencapai 100 mL. Ramuan herbal antiasmatik selalu dibuat baru.

### Preparasi trakea marmut

Marmut sebanyak 40 ekor digunakan untuk uji *in vitro*, 20 ekor untuk uji aktivitas antagonis reseptor H<sub>1</sub>, dan 20 ekor untuk uji aktivitas relaksan otot polos. Masing-masing uji terdiri dari 5 kelompok perlakuan (4 ekor marmut / kelompok), yaitu kelompok yang diinkubasi dengan ramuan herbal 1, 2, 3, teofilin, dan akuades. Marmut dikorbkan dengan cara dislokasi leher, kemudian dilakukan pembedahan pada leher untuk mengambil trakea. Trakea dimasukkan ke dalam cawan fiksasi yang sudah diisi dengan larutan buffer Krebs. Trakea dibersihkan dari jaringan lain seperti lemak dan serabut otot yang masih menempel. Trakea dipotong sedemikian rupa sehingga membentuk pita dengan panjang yang disesuaikan dengan panjang *organ bath*. Kedua ujung tulang rawan otot polos diikat dengan benang bedah. Ujung bagian bawah dikaitkan dengan bagian tuas *organ bath* dan ujung bagian atas dikaitkan dengan bagian yang terhubung dengan transduser.<sup>11</sup>

### Uji aktivitas antagonis reseptor H<sub>1</sub>

Uji ini menggunakan 20 trakea dari 20 ekor marmut yang dikelompokkan menjadi 5 kelompok, yaitu kelompok yang diinkubasi dengan ramuan herbal 1, 2, 3, difenhidramin HCl, dan akuades. Metode mengacu pada Vogel.<sup>12</sup> Pertama tabung pada *organ bath* diisi dengan larutan buffer Krebs sebanyak 20,0 mL. Otot polos trakea yang sudah dikaitkan pada tuas dan transduser kemudian direndam dalam *organ bath*. Fase ekuilibriasi dilakukan dengan cara mengganti larutan buffer Krebs tiap 15 menit selama 60 menit atau hingga tercapai kondisi stabil. Selanjutnya dilakukan pemberian histamin dengan konsentrasi bertingkat ( $10^{-8}$  –  $10^{-3}$ ) M ke dalam *organ bath*. Respon kontraksi yang terjadi tercatat pada rekorder. Respon kontraksi yang tercatat merupakan respon kontraksi kontrol. Pemberian histamin berikutnya yang tidak meningkatkan respon kontraksi disebut sebagai respon kontraksi maksimum (100%).

Tahap ke dua adalah tahap pencucian trakea yang dilakukan dengan cara mengganti buffer Krebs setiap 10 menit selama 60 menit atau sampai respon kontraksi akibat pemberian histamin hilang. Trakea yang sudah dicuci selanjutnya diinkubasi dengan ramuan herbal antiasmatik / difenhidramin HCl / akuades sebanyak 100 µL (5 µl/mL) dalam *organ bath* selama 10 menit. Selanjutnya dilakukan kembali pemberian histamin dengan konsentrasi bertingkat ke dalam *organ bath*. Difenhidramin HCl sebagai kontrol positif ditambahkan ke dalam *organ bath* hingga tercapai kadar  $10^{-6}$  M. Replikasi pengujian ini dilakukan sebanyak 4 kali.

Respon kontraksi diubah menjadi % kontraksi dengan cara membandingkan respon kontraksi setelah perendaman ramuan herbal antiasmatik dengan respon kontraksi kontrol. Nilai D<sub>50</sub> histamin tanpa dan dengan pengaruh ramuan herbal antiasmatik dihitung dengan rumus:

$$\text{Log } D_{50} = \left[ \frac{50 - Y_1}{Y_2 - Y_1} \times (X_2 - X_1) \right] + X_1$$

X1: log konsentrasi dengan respon tepat di bawah 50%

X2: log konsentrasi dengan respon tepat di atas 50%

Y1: % kontraksi tepat di bawah 50%

Y2: % kontraksi tepat di atas 50%

Nilai D<sub>50</sub> kemudian diubah menjadi pD<sub>2</sub> yang merupakan nilai minus log D<sub>50</sub>.<sup>13</sup> Nilai pD<sub>2</sub> diuji homogenitas variannya menggunakan *test of homogeneity of variance*, sedangkan normalitas distribusinya diketahui melalui uji Shapiro Wilk. Kebermaknaan perbedaan nilai pD<sub>2</sub> diuji dengan uji Mann-Whitney dengan taraf kepercayaan 95%. Ramuan herbal antiasmatik dinyatakan memiliki aktivitas sebagai antagonis H<sub>1</sub> bila nilai pD<sub>2</sub>-nya lebih kecil secara signifikan dibandingkan pD<sub>2</sub> histamin.

### Uji aktivitas relaksan otot polos

Uji dilakukan dengan menggunakan 20 trakea dari 20 ekor marmut yang dikelompokkan menjadi 5 kelompok, yaitu kelompok yang diberikan perlakuan penambahan pada *organ bath* berupa

ramuan herbal 1, 2, 3, teofilin, dan akuades. Otot polos trakea yang sudah diisolasi dikaitkan pada tuas dan transduser, kemudian dilakukan ekuilibrasi. Histamin ditambahkan dalam *organ bath* sekaligus untuk mengkontraksi otot polos trakea hingga diperoleh respon 100%. Otot polos trakea kemudian dicuci dengan larutan buffer Krebs. Apabila otot polos trakea sudah stabil, dilakukan pemberian histamin kembali hingga diperoleh respon kontraksi 80%. Setelah tercapai respon kontraksi, ramuan herbal antiasmatik diberikan sekaligus sebanyak 200  $\mu$ L (10  $\mu$ l/mL).<sup>14</sup> Dilakukan pengujian efek relaksasi terhadap akuades untuk kelompok kontrol negatif, sedangkan sebagai kontrol positif digunakan teofilin  $3,3 \times 10^{-2}$  M sebanyak 200  $\mu$ L. Pengulangan pengujian dilakukan sebanyak 4 kali.

Data yang diperoleh adalah tinggi puncak kurva kontraksi karena pemberian histamin dan penurunannya setelah pemberian ramuan herbal antiasmatik atau teofilin. Kuantifikasi data dilakukan dengan menghitung % relaksasi sebagai berikut:

$$\% \text{ relaksasi} = \frac{\text{penurunan puncak kurva (mm)}}{\text{tinggi puncak kurva (mm)}} \times 100\%$$

Penentuan penggunaan uji statistik parametrik atau non parametrik didasarkan pada normalitas distribusi dan homogenitas varian data persen relaksasi. Uji normalitas distribusi data persen relaksasi dilakukan dengan uji Shapiro Wilk. Uji homogenitas varian data persen relaksasi dilakukan dengan *test of homogeneity of variance*. Kebermaknaan perbedaan persen relaksasi tiap perlakuan dianalisa dengan analisa non parametrik yaitu uji Kruskall Wallis, dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney. Taraf kepercayaan pengujian data secara statistika adalah 95%. Ramuan herbal antiasmatik dikatakan beraktivitas relaksan kontraksi otot polos apabila % relaksasinya lebih besar secara signifikan dibandingkan kontrol negatif.<sup>13</sup>

#### **Uji aktivitas sebagai mast cell stabilizer**

Dua puluh ekor marmut digunakan

dalam pengujian ini dan dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan, yaitu kelompok yang diberi ramuan herbal antiasmatik 1, 2, 3, akuades, dan ketotifen. Seluruh marmut dilakukan sensitisasi sebelum diberikan ramuan herbal, obat, maupun akuades. Sensitisasi marmut dilakukan dengan cara menginjeksi marmut secara subkutan dengan suspensi yang mengandung 10  $\mu$ g ovalbumin dan 1 mg Al(OH)<sub>3</sub> dalam 0,5 mL larutan NaCl 0,9% sebanyak 0,5 mL/kgBB. Suspensi diinjeksikan kembali pada hari ke-14 sesudah penyuntikan pertama. Pada hari ke-15 dimulai pemberian ramuan herbal antiasmatik 1, 2, 3, ketotifen dan akuades sesuai kelompok sampai hari ke-29. Ramuan herbal antiasmatik 1, 2, dan 3 diberikan pada masing-masing marmut secara per oral dengan dosis 12 mL/kgBB. Ketotifen diberikan sebagai kontrol positif dengan dosis 0,16 mg/kgBB dan akuades sebagai kontrol negatif.<sup>15</sup>

Nebulasi pada marmut dilakukan dengan 0,25% ovalbumin dalam NaCl 0,9% selama 10 menit pada hari ke-18, 21, 24, dan 29. Dua puluh empat jam setelah nebulasi hari ke-29, marmut dikorbankan, kemudian dilakukan pengecatan sel mast pada otot polos trakea.

Sel mast pada otot polos trakea marmut diwarnai dengan *toluidin blue*. Otot polos trakea kemudian difiksasi dalam formalin 10%. Spesimen diwarnai dengan *toluidin blue* selama 2 - 3 menit yang selanjutnya dibilas dengan akuades dan dehidrasi secara bertahap dengan serangkaian konsentrasi etanol. Selanjutnya dilakukan penghitungan jumlah sel mast yang terdegranulasi dan yang utuh di bawah mikroskop cahaya, kemudian dihitung % sel mast yang tidak terdegranulasi. Penghitungan dilakukan dengan pada 5 lapang pandang kemudian dirata-rata jumlah sel mast terdegranulasi dan sel mast tidak terdegranulasi untuk masing-masing preparat.

Analisa statistika terhadap data % sel mast yang tidak terdegranulasi terdiri dari uji normalitas distribusi menggunakan uji Shapiro Wilk, uji homogenitas varian

menggunakan *test of homogeneity of variance*, dilanjutkan dengan uji beda dengan Anova satu jalan dan uji Tukey. Kemampuan ramuan herbal antiasmatik sebagai *mast cell stabilizer* dinyatakan bila % sel mast yang tidak terdegranulasi lebih besar secara bermakna dibandingkan kontrol negatif.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Uji aktivitas antagonis reseptor H1

Berikatannya histamin dengan reseptor H1 mengakibatkan kontraksi otot polos pernafasan, sekresi bronkial, dan udem pada mukosa pernafasan.<sup>9</sup> Reseptor H1 yang digunakan dalam penelitian ini adalah reseptor H1 yang terdapat pada otot polos trakea marmut.

Hasil uji aktivitas antagonis reseptor H1 disajikan sebagai nilai pD<sub>2</sub> yang merupakan nilai afinitas, yaitu kemampuan suatu zat untuk mengikat reseptornya. Semakin besar nilai pD<sub>2</sub>, maka semakin besar afinitas histamin dengan reseptornya. Nilai pD<sub>2</sub> histamin, ramuan herbal antiasmatik 1, 2, 3 dan difenhidramin terdapat pada Tabel 2.

Banyaknya campuran keempat serbuk simplisia yang digunakan untuk membuat ramuan herbal antiasmatik adalah 10%. Volume masing-masing jenis ramuan herbal antiasmatik yang digunakan untuk menginkubasi trakea dalam *organ bath* berisi buffer Krebs sebanyak 20 mL adalah 100 µL.

Inkubasi trakea dengan ramuan herbal antiasmatik 1, 2 dan 3 menurunkan nilai pD<sub>2</sub> histamin, yang artinya semua ramuan herbal antiasmatik menurunkan afinitas histamin dengan reseptor H1. Nilai pD<sub>2</sub>

histamin setelah penginkubasian trakea dengan ramuan herbal antiasmatik 1, 2, dan 3 lebih kecil secara bermakna dibandingkan pD<sub>2</sub> histamin ( $p < 0,05$ ), sehingga dapat dinyatakan bahwa semua jenis herbal antiasmatik bertindak sebagai antagonis reseptor H1.

Penelitian dengan metode yang serupa pernah dilakukan oleh Nugroho dkk untuk menguji kemampuan marmin yang merupakan senyawa aktif dari tanaman *Aegle marmelos* Correa sebagai antagonis H1. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa pretreatment marmin pada konsentrasi 10 dan 100 µM mampu menurunkan nilai pD<sub>2</sub> histamin.<sup>16</sup>

### Uji aktivitas relaksan otot polos

Terapi asma akut ditujukan untuk mengatasi gejala sesak nafas. Salah satu obat yang digunakan adalah bronkodilatator.<sup>17</sup> Bronkodilatasi digambarkan sebagai relaksasi otot polos pada bronkus yang mengalami kontraksi.

Hasil uji relaksasi otot polos trakea marmut berupa persentase (%) relaksasi yang disajikan pada Tabel 3. Analisis Mann Whitney menunjukkan persentase relaksasi ramuan herbal antiasmatik 1, 2, dan 3 berbeda bermakna terhadap kontrol negatif (akuades). Uji beda yang dilakukan untuk membandingkan persentase relaksasi infusa ramuan herbal antiasmatik 1, 2, dan 3 dengan teofilin menunjukkan perbedaan yang bermakna ( $p < 0,05$ ). Hasil uji beda tersebut menunjukkan bahwa infusa ramuan herbal antiasmatik 1, 2, dan 3 mempunyai kemampuan merelaksasi otot polos trakea marmut, namun tidak sekuat teofilin.

**Tabel 2. Nilai pD<sub>2</sub> pada uji aktivitas antagonis reseptor H1 (rata-rata ± SEM)**

Perlakuan	pD <sub>2</sub>	Nilai p (95%)
Histamin	5,82 ± 0,07	
Histamin + ramuan herbal antiasmatik 1	4,86 ± 0,20*	0,021
Histamin + ramuan herbal antiasmatik 2	5,27 ± 0,02*	0,021
Histamin + ramuan herbal antiasmatik 3	4,90 ± 0,10*	0,021
Histamin + difenhidramin HCl	4,32 ± 0,06*	0,021

\*Berbeda bermakna dengan histamin

**Tabel 3. Persentase relaksasi otot polos trakea marmut (rata-rata ± SEM)**

Perlakuan	% Relaksasi	Nilai p (95%)
Ramuan herbal antiasmatik 1	9,42 ± 1,15*	0,014
Ramuan herbal antiasmatik 2	22,56 ± 1,86*	0,014
Ramuan herbal antiasmatik 3	32,55 ± 2,85*	0,014
Teofilin	98,88 ± 1,05*	0,013
Akuades	0,00 ± 0,00	

\*Berbeda bermakna terhadap akuades

Salah satu simplisia yang digunakan dalam ramuan herbal antiasmatik adalah kemukus. Wahyono dkk melaporkan bahwa ekstrak kemukus yang mengandung dihidrokubebin dapat menurunkan efek kontraksi trakea yang diinduksi metakolin.<sup>6</sup> Sementara itu Nugroho dkk melaporkan bahwa dihidrokubebin dari kemukus mampu menghambat pelepasan histamin dari sel RBL-2H3 yang diinduksi oleh DNP24-BSA, *thapsigargin* dan *ionomycin* yang diduga melalui mekanisme pensinyalan  $Ca^{2+}$  intraseluler.<sup>18</sup> Perbedaan hasil penelitian ini dengan penelitian sebelumnya tersebut di atas dimungkinkan karena kandungan dihidrokubebin dalam ramuan herbal antiasmatik kadarnya rendah. Teknik ekstraksi sederhana berupa infusa dapat menjadi kemungkinan penyebab rendahnya kadar dihidrokubebin dalam ramuan herbal antiasmatik. Penelitian yang dilakukan oleh Wahyono<sup>6</sup> mengisolasi dihidrokubebin menggunakan pelarut non polar yaitu n-heksan. Selain itu, penyiapan ramuan herbal antiasmatik menggunakan panas tinggi dalam waktu yang cukup lama memungkinkan terjadinya kerusakan senyawa aktif yang berperan sebagai relaksan.

#### **Uji aktivitas sebagai *mast cell stabilizer***

Induksi asma dilakukan pada 20 ekor marmut menggunakan ovalbumin yang diinjeksikan secara subkutan dan nebulasi.

Pengamatan gambaran mikroskopis pada preparat histopatologi, sel mast ditemukan pada tunika submukosa dan tunika adventisia trakea marmut. Sel mast terdegranulasi terwarnai biru dengan sitoplasma yang terlihat lebih transparan,

sedangkan sel mast tidak terdegranulasi dicat biru dengan warna solid. Sel mast pada trakea marmut ditunjukkan pada Gambar 1. Aktivitas ramuan herbal antiasmatik ditunjukkan dengan persentase sel mast yang tidak terdegranulasi (Tabel 4). Semakin besar persentase sel mast yang tidak terdegranulasi, semakin besar aktivitas ramuan herbal antiasmatik sebagai *mast cell stabilizer*.

Persentase sel mast yang tidak terdegranulasi pada otot polos trakea marmut yang diberi ramuan herbal antiasmatik 1 dan 3 lebih besar dibandingkan kelompok kontrol negatif, namun secara statistik tidak ada perbedaan yang bermakna ( $p > 0,05$ ). Otot polos marmut yang diberi ramuan herbal antiasmatik 2, persentase sel mast yang tidak terdegranulasi 0%, namun tidak ada perbedaan yang bermakna dibandingkan kontrol negatif. Ramuan herbal antiasmatik 1, 2, dan 3 dinyatakan tidak mempunyai aktivitas sebagai *mast cell stabilizer*.

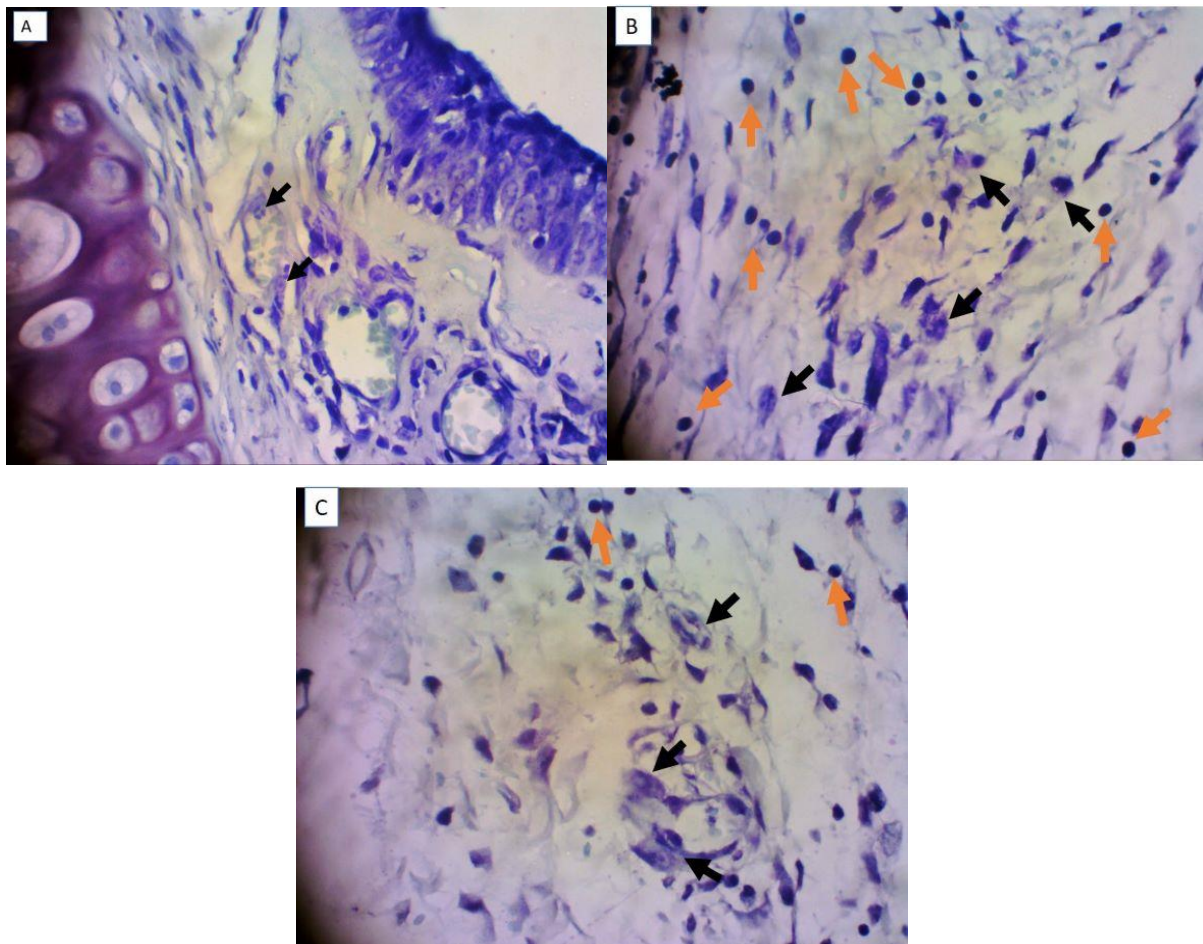
Penggunaan marmut yang diberi paparan ovalbumin sebagai model hewan uji asma mempunyai keterbatasan dalam hal respon biologis. Prosedur sensitisasi dan pemaparan ovalbumin telah dibuat seragam, namun respon marmut beragam. Pembuatan marmut sebagai model hewan uji asma perlu dimodifikasi dengan penambahan parameter yang dapat menunjukkan tingkat keparahan asma seperti pengukuran kadar IgE dalam darah.<sup>19</sup>

**Tabel 4. Persentase sel mast pada trakea marmut (rata-rata ± SEM)**

Kelompok	Rata-rata jumlah sel mast		% Sel mast tidak terdegranulasi	Nilai p (95%)
	Terdegranulasi	Tidak terdegranulasi		
RHA 1	6 ± 2,94	4,25 ± 1,71	42,14 ± 3,00	0,502
RHA 2	1,25 ± 0,96	0 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,549
RHA 3	4 ± 2,45	2 ± 2,45	21,39 ± 13,41	1,000
Ketotifen	3,25 ± 2,75	4 ± 1,41	65,36 ± 13,28*	0,029
Akuades	14 ± 9,42	4,25 ± 3, 86	20,53 ± 8,60	

\*Berbeda bermakna terhadap kontrol negatif (akuades)

RHA: ramuan herbal antiasmatik



**Gambar 1. A. Sel mast terdegranulasi ditemukan pada lapisan submukosa trakea marmut (tanda panah hitam). B,C. Sel mast ditemukan pada lapisan adventisia trakea marmut; sel mast terdegranulasi (tanda panah hitam), sel mast tidak terdegranulasi (tanda panah oranye).**

**Pewarnaan menggunakan toluidine blue dan perbesaran 40x.**



## KESIMPULAN

Ramuan herbal antiasmatik 1, 2, dan 3 mempunyai aktivitas sebagai antagonis reseptor H1. Ramuan herbal antiasmatik 1, 2, dan 3 mampu merelaksasi otot polos trakea marmut yang mengalami kontraksi, namun tidak sekuat teofilin. Semua ramuan herbal antiasmatiktik dalam penelitian ini tidak memiliki aktivitas menghambat degranulasi sel mast.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kepala B2P2TOOT Tawangmangu atas dukungan pendanaan penelitian ini, rekan-rekan tim pelaksana penelitian, serta Bagian Farmakologi dan Farmasi Klinik Fakultas Farmasi UGM dan Laboratorium Histologi FK UGM atas segala bantuan yang diberikan.

## DAFTAR RUJUKAN

1. Kementerian Kesehatan RI. Penderita asma di Indonesia. Jakarta: InfoDATIN Kemenkes RI; 2019. 1.
2. GAN. The global asthma report 2018. Auckland New Zealand: The Global Asthma Network; 2018. 6–13 p.
3. Kementerian Kesehatan RI. Hasil utama Riset Kesehatan Dasar 2018 [Internet]. 2018 p. 51. Available from: <http://www.depkes.go.id/resources/download/info-terkini/hasil-riskesmas-2018.pdf>.
4. Kumar S, Malhotra R, Dinesh Kumar. *Euphorbia hirta*: its chemistry, traditional and medicinal uses, and pharmacological activities. *Pharmacogn Rev.* 2010;4(7):58–61.
5. Yuet Ping K, Darah I, Chen Y, Sreeramanan S, Sasidharan S. Acute and subchronic toxicity study of *Euphorbia hirta* L. methanol extract in rats. *Biomed Res Int.* 2013;2013:182064. doi: 10.1155/2013/182064.
6. Wahyono, Hakim L, Wahyuono S, Mursyidi A, Verpoorte R, Timmerman H. Isolasi senyawa tracheospasmodic dari buah *Piper cubeba* isolat. *Maj Farm Indones.* 2003;14(3):119–23.
7. Jin JH, Lee DU, Kim YS, Kim HP. Anti-allergic activity of sesquiterpenes from the rhizomes of *Cyperus rotundus*. *Arch Pharm Res.* 2011;34(2):223–8.
8. Chen Y, Er H. Antioxidant, anti-proliferative and bronchodilatory activities of *Euphorbia hirta* extracts. *Malaysian J Sci [Internet].* 2010;29(1). Available from: <https://mjs.um.edu.my/article/view/7616>.
9. Yamauchi K, Ogasawara M. The role of histamine in the pathophysiology of asthma and the clinical efficacy of antihistamines in asthma therapy. *Int J Mol Sci.* 2019;20(7).
10. Departemen Kesehatan RI. Farmakope Indonesia Edisi III. Jakarta; 1979.
11. Nugroho AE, Anas Y, Arsito P, Wibowo J, Riyanto S, Sukari M. Effects of marmin, a compound isolated from *Aegle marmelos* Correa, on contraction of the guinea pig-isolated trachea. *Pak J Pharm Sci.* 2011;24(4):427–33.
12. Vogel HG, H.Vogel W, Schölkens BA, Sandow J, Günter M, Vogel WF, editors. Drug discovery and evaluation edited by HG Vogel and WH Vogel. Second Edition. Vol. 17, Human & experimental toxicology. Berlin: Springer Berlin Heidelberg; 2002. 351–4 p.
13. Nugroho AE, Wibowo JTRI, Riyanto S. Marmin, a compound from *Aegle marmelos* Corr., relaxes the ovalbumin-induced contraction of trachea. *Int J Pharm Pharm Sci.* 2012;4(1):479–84.
14. Abdel-Haq H, Palmery M, Leone MG, Saso L, Silvestrini B. Relaxant effects of aflatoxins on isolated guinea pig trachea. *Toxicol Sci.* 2000;55(1):162–70.
15. Mahajan SG, Mehta AA. Suppression of ovalbumin-induced Th2-driven airway inflammation by  $\beta$ -sitosterol in a guinea pig model of asthma. *Eur J Pharmacol [Internet].* 2011;650(1):458–64. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejphar.2010.09.075>
16. Nugroho AE, Arsito PN, Anas Y, Wibowo JT, Riyanto S, Sukari MA. Antagonisme marmin terhadap reseptor 5-hidroksi triptamin dan reseptor histamin pada otot polos ileum marmut (antagonism of marmin on 5-hydroxytryptamine and histamine receptors in guinea-pig ileum smooth muscle). *J Ilmu Kefarmasian Indones.* 2011;9(2):110–5.
17. Williams DM, Rubin BK. Clinical

- pharmacology of bronchodilator medications. *Respir Care.* 2018;63(6):641–54.
18. Nugroho AE, Wahyono W, Wahyuono S, Maeyama K. Effects of dihydrocubebin, a lignan isolated from Indonesian plant *Piper cubeba*, on the histamine release from rat mast cells. *Orient Pharm Exp Med.* 2010;10(3):200–7.
  19. Chang HC, Gong CC, Chan CL, Mak OT. A nebulized complex traditional Chinese medicine inhibits histamine and IL-4 production by ovalbumin in guinea pigs and can stabilize mast cells in vitro. *BMC Complement Altern Med [Internet].* 2013;13(1):1. Available from: BMC Complementary and Alternative Medicine