

PENGARUH SENYAWA 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon SEBAGAI AGEN SPASMOLITIK ILEUM MARMUT TERISOLASI YANG DI INDUKSI HISTAMIN

THE EFFECT OF COMPOUNDS 1- (2,5-dihydroxyphenyl) - (3-pyridine-2-yl) -propenone AS SPASMOLITIC ISOLATED GUINEA PIG ILEUM WITH HISTAMIN

Apriadis*, Puguh Novi Arsito, M.Sc., Apt.**

Undergraduated, Muhammadiyah University of Yogyakarta*

Lecture, Muhammadiyah University of Yogyakarta**

INTISARI

Terdapat beberapa senyawa turunan kalkon yang telah diuji khasiatnya sebagai antifungi, antibakteri, antikanker dan antitumor yaitu senyawa 2-hidroksi kalkon dan 2-hidroksi-4-dimetilamino kalkon. Kedua senyawa tersebut terbukti memiliki efek sebagai antifungi, antibakteri, antikanker dan antitumor. Senyawa turunan kalkon lainnya diduga masih memiliki banyak khasiat terhadap organ lain didalam tubuh. Pada tahun 2016 telah dilakukan penelitian tentang senyawa turunan kalkon yaitu senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon yang merupakan hasil sintesis dari *starting material* 2,5-dihidroksiasetofenon dan piridin-2-karbaldehid yang diuji sebagai agen spasmolitik pada reseptor ACh-M₃ dan terbukti memiliki efek antagonis kompetitif. Tujuan dari penelitian ini yaitu menguji pengaruh DHPP terhadap kontraksi otot polos ileum marmut terisolasi yang di induksi Histamin.

Penelitian ini menggunakan metode *in vitro* yaitu dengan cara mengisolasi organ ileum marmut menggunakan *organ bath*. Ileum direndam dalam larutan *buffer tyrode* yang kemudian diberi perlakuan. Dosis yang digunakan untuk menguji senyawa DHPP adalah 10 μ M dan 20 μ M. Sementara agonisnya diberikan dengan seri kadar 10^{-8} - 10^{-2} M. Pada uji *in vitro* ini juga akan dipelajari tipe antagonis dari senyawa DHPP dan sifat reversibilitasnya pada reseptor.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa DHPP dapat menghambat kontraksi otot polos ileum terisolasi yang diinduksikan histamin. Pada reseptor H₁ terjadi pergeseran nilai pD₂ yang signifikan ($p < 0,05$) hanya terjadi pada kelompok senyawa DHPP 20 μ M. Nilai pD₂ kelompok kontrol, senyawa DHPP 10 μ M dan 20 μ M berturut-turut adalah sebesar 5,84; 5,54 dan 5,49. Dari hasil analisis *Schild-plot* diketahui tipe antagonismenya bersifat kompetitif (*slope*: 0,853, pA₂:1,650. Kesimpulan dari penelitian ini adalah senyawa DHPP memiliki aktivitas antagonis kompetitif pada reseptor H₁

Kata kunci: spasmolitik, DHPP, ileum, histamin, kalkon.

ABSTRACT

There are several kalkon derived compounds that have been tested for efficacy as antifungi, antibacterial, anticancer and antitumor that is compound 2-hydroxy kalkon and 2-hydroxy-4-dimethylamino kalkon. Both compounds are shown to have an effect as antifungal, antibacterial, anticancer and antitumor. Other derived kalkon derived compounds still have many benefits to other organs in the body. In 2016 a study of kalkon derived compounds 1-(2,5-dihydroxyphenyl)-(3-pyridine-2-yl) -propenone which is the synthesis of the starting material 2,5-dihydroxyacetophenone and pyridine 2- carbaldehyde is tested as a spasmolytic agent on ACh-M3 respotors and is shown to have a competitive antagonistic effect. The purpose of this study is to examine the effect of DHPP on the contraction of the isolated guinea pig ileum which is induced by Histamine.

This research uses in vitro method by isolating guinea pig ileum using organ bath. Ileum is soaked in a tyrode buffer solution which is then treated. The doses used to test DHPP compounds were 10 μM and 20 μM . While the agonist is given with a series of levels of 10^{-8} - 10^{-2} M. In vitro test will also study the type of antagonists of DHPP compounds and their reversibility properties on receptors.

The results showed that the compound DHPP can inhibit ileum muscle contraction induced isolated histamine. In receptors H_1 shifts the value of pD_2 significant ($p < 0.05$) only in the group of compounds DHPP 20 μM . Value PD_2 control group, the compound DHPP 10 μM and 20 μM respectively of 5,84; 5.54 and 5.49. From the analysis of Schild-plot known type of antagonism is competitive (*slope*: 0,853, *pA2*:1,650). The conclusion of this study is the compound DHPP have a competitive antagonist activity at the receptor H_1 .

Keywords: spasmolytic, DHPP, ileum, histamine, kalkon.

PENDAHULUAN

Senyawa turunan kalkon merupakan salah satu tipe metabolit sekunder yang termasuk dalam golongan flavonoid. Beberapa diantara turunan kalkon yaitu 2-hidroksi kalkon dan 2-hidroksi-4-dimetilamino kalkon yang dilaporkan memiliki keaktifan biologi sebagai antifungi, antibakteri (Alam 2004), antikanker dan antitumor (Hayashi et al., 2000, Usman et al., 2005), anti-inflamansi, antimutagenik dan antialergi (Vender et al, 1993). Pada tahun 2016 telah dilakukan penelitian tentang senyawa turunan kalkon yaitu senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon yang merupakan hasil sintesis dari *starting material* 2,5-dihidroksiasetofenon dan piridin-2-karbaldehid yang diuji sebagai agen spasmolitik pada reseptor ACh-M₃ dan terbukti memiliki efek antagonis kompetitif (Setiyani, 2016). Senyawa kalkon tersebar diberbagai family tanaman, namun jumlahnya terbatas dibanding dengan senyawa flavonoid lain karena senyawa ini termasuk dalam kategori minor flavonoid dan persentasenya dalam tumbuhan juga kecil serta variasi strukturnya relatif sedikit. Oleh karena itu, untuk mendapatkan kalkon dalam jumlah yang cukup serta variasi struktur yang banyak maka hanya dapat dilakukan dengan sintesis di laboratorium (Palleros, 2004). Senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon adalah senyawa turunan kalkon tersubstitusi gugus hidroksi lebih dari satu sehingga diprediksi dapat disintesis dengan tiga metode yang telah disebutkan yaitu katalis asam, proteksi gugus hidroksi, dan radiasi microwave menggunakan katalis K₂CO₃ tanpa pelarut. Sintesis menggunakan katalis asam dan radiasi microwave menggunakan katalis K₂CO₃ tanpa pelarut lebih menguntungkan daripada metode proteksi gugus 6 hidroksi karena waktu reaksi relatif lebih singkat, hanya satu tahapan

reaksi, dan starting material yang diperlukan lebih sedikit. Oleh karena itu, dalam penelitian ini dilakukan usaha untuk mensintesis senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il) propenon dengan metode katalis asam dan radiasi microwave menggunakan katalis K₂CO₃ tanpa pelarut serta uji aktifitas antiinflamasi secara *in vivo* (Wibowo, 2013).

Penelitian ini memfokuskan pada uji farmakodinamik interaksi senyawa DHPP terhadap reseptor Histamin ileum marmut terisolasi. Uji farmakodinamik bertujuan untuk mengetahui pengaruh DHPP sebagai agen spasmolitik terhadap otot polos ileum dan selektifitasnya terhadap reseptor Histamin. Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode *in vitro* (Metode ileum terisolasi).

Agen spasmolitik merupakan suatu senyawa yang dapat mengatasi kejang otot disekitar perut. Kejang atau spasme otot secara umum adalah kontraksi otot yang terjadi secara tiba-tiba yang dapat terjadi karena penggunaan otot yang terus-menerus atau pada saat kondisi udara yang dingin sehingga mengganggu aliran darah terganggu. Prevalensi spasme otot ini belum pasti karena banyak penderita yang tidak melaporkan gejala mereka. Hal ini juga tampaknya berbeda antar negara, tetapi dilaporkan 4 dari 10 penduduk dunia mengeluhkan nyeri dan kejang perut dengan prevalensi kejadian nyeri dan kejang perut di dunia berkisar antara 10% hingga 46% (Quigley, *et al.* 2006). Histamin merupakan suatu amina biologis yang berperan sebagai neurotransmitter. Senyawa ini dihasilkan oleh sel mast dari asam amino histidin. Senyawa ini disintesis dengan enzim histidin dekarboksilase dan diurai oleh histamin-N

metil transferase atau diamin oksidase. Histamin merupakan suatu autakoid yaitu agen penyembuh diri sendiri yang dilepaskan oleh sel sebagai respon terhadap stimulus, bisa juga dikatakan sebagai hormon lokal (Offermans dan Rosenthal, 2006). Histamin

hampir tersebar di seluruh tubuh, akan tetapi sebagian besar ditemukan di kulit, saluran pernapasan, saluran pencernaan, dan otak. Histamin tersimpan di dalam tiga tipe sel yaitu sel *mast*, *enterochromaffin-like* (ECL) *cell*, dan sel syaraf (Lullman *et al.*, 2000).

METODE PENELITIAN

DESAIN PENELITIAN

Desain penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris dengan tema farmakologi molekuler.

BAHAN DAN ALAT

Senyawa yang digunakan dalam penelitian ini adalah 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon. Bahan kimia yang digunakan adalah buffer tyrode, gas karbogen (mengandung 95% oksigen dan 5% karbondioksida), agonis reseptor histamin, larutan difenhidramin, akuades.

Alat yang digunakan adalah satu set alat untuk preparasi organ (scalpel, pinset, cawan petri, pipet tetes, jarum, benang, gunting bedah) kemudian vortex, pengaduk magnet termostat tipe 1419, transduser (Ugo basille[®]), rekorder (Ugo basille[®]), dua set *organ bath* volume 20 ml Bridge amplifier (Ugo basille[®]) dan pipet mikro 100 μ l, 1000 μ l (Eppendorf[®]).

Penyiapan Larutan Buffer Tyrode

Larutan *buffer tyrode* terdiri atas dua macam larutan, yaitu larutan A dan B. Komposisi larutan dapat dilihat dalam Tabel

1. Bahan-bahan pada tabel larutan A masing-masing ditimbang, lalu dimasukkan ke dalam labu takar, kemudian dilarutkan dengan akuades hingga volume 1L. Bahan pada tabel larutan B ditimbang, kemudian dimasukkan ke labu takar, dan dilarutkan dengan akuades hingga volume 1L. Untuk membuat larutan *buffer tyrode*, dibuat campuran antara 100 ml larutan A, 100 ml larutan B, 1,00 g glukosa, kemudian ditambahkan 800 ml akuades (Anonim, 1986).

Tabel 1. Komposisi Buffer Tyrode

Komposisi larutan A		Komposisi larutan B	
Bahan	Jumlah	Bahan	Jumlah
NaCl	80 g	NaHCO ₃	10 g
KCL	2,00 g		
MgCl ₂ .6H ₂ O	2,14 g		
CaCl ₂ .2H ₂ O	2,64 g		
NaH ₂ PO ₄ .2H ₂ O	0,65 g		

Penyiapan Larutan Senyawa DHPP 10 μ M dan 20 μ M.

Larutan DHPP dibuat dalam bentuk stok DHPP konsentrasi 2×10^{-3} M. Sebagai senyawa uji, diberikan dalam konsentrasi 10 dan 20 μ M. Larutan stok konsentrasi 2×10^{-3} M ditambahkan sebanyak 100 atau 1000 μ L ke dalam organ bath yang telah berisi organ ileum dan larutan *buffer tyrode* 20,0 mL untuk mencapai senyawa DHPP konsentrasi 10 μ M dan 20 μ M.

Pembuatan Larutan Histamin

Larutan histamin dibuat dalam bentuk stok histamin konsentrasi 2×10^{-1} M dalam akuades. Histamin memiliki bobot molekul

184,1 g/mol. Pengenceran larutan stok histamin dilakukan dengan cara pengenceran bertingkat dari larutan stok histamin 2×10^{-1} M, sehingga diperoleh larutan histamin konsentrasi 2×10^{-2} ; 2×10^{-3} ; 2×10^{-4} ; 2×10^{-5} dan 2×10^{-6} M. Konsentrasi histamin sebesar 10^{-8} M diperoleh dengan cara menginjeksikan 100 μ L larutan stok histamin 2×10^{-6} M ke dalam *organ bath* yang berisi larutan *buffer tyrode* 20,0 mL.

Preparasi Organ Ileum

Marmut jantan yang digunakan memiliki bobot ± 450 g. Marmut dikorbankan dengan cara dislokasi tulang belakang kepala (*cervix*) dan dilakukan pembedahan pada bagian perut. Selanjutnya diambil bagian ileumnya sepanjang 2 cm. Ileum yang telah diambil diletakkan ke dalam cawan fiksasi yang diisi larutan *buffer tyrode*, kemudian dibersihkan dari isi ususnya. Setelah itu dibersihkan juga dari jaringan-jaringan lain yang masih menempel (jaringan lemak). Pada kedua ujung usus ini selanjutnya diikat dengan benang. Ujung benang bagian bawah diikatkan pada bagian tuas *organ bath* dan ujung bagian atas diikatkan pada bagian yang terhubung dengan transduser. *Organ bath* sebelumnya telah dikondisikan sehingga suhunya mencapai 37°C dan dialiri gas karbogen. Dengan kondisi tersebut organ dapat bertahan selama 6 jam.

Uji Aktivitas Senyawa DHPP Terhadap Agonis Reseptor Fisiologis (Histamin)

Uji aktivitas senyawa DHPP agonis reseptor dilakukan untuk mengukur kontraksi ileum marmut dengan alat organ terisolasi setelah pengenalan agonis reseptor. Pengukuran kontraksi ini dilakukan secara bertingkat dengan pemberian seri konsentrasi agonis. *Organ bath* diisi dengan 20 mL

larutan *buffer tyrode*, kemudian organ direndam dalam *organ bath* tersebut dan dilakukan ekuilibrisasi sampai diperoleh kondisi stabil (30 menit). Selanjutnya, dilakukan pemberian agonis ke dalam *organ bath* dan respon kontraksi yang terjadi akan tercatat pada rekorder (kertas *polygraph*). Pemberian agonis dilakukan sampai dicapai kontraksi maksimum (100%). Pengukuran kontraksi dilakukan dua kali, dimana antara pengukuran pertama dan kedua dilakukan pencucian organ selama 30 menit dengan penggantian larutan *buffer tyrode* setiap lima menit. Pada kontraksi kedua, setelah dilakukan pencucian organ dan kondisi organ telah stabil, dilakukan pemberian senyawa DHPP konsentrasi 10 dan 100 μ M. Selanjutnya, diberikan agonis ke dalam *organ bath* dengan konsentrasi bertingkat dan respon kontraksi yang terjadi akan tercatat pada rekorder. Kurva hubungan konsentrasi dan % respon kontraksi agonis dengan atau tanpa pengaruh senyawa DHPP yang terjadi kemudian dibandingkan.

Uji Reversibilitas

Uji reversibilitas bertujuan untuk melihat kemampuan organ untuk kembali pada kondisi semula, atau pada kondisi sebelum dilakukannya pengenalan agonis reseptor. Uji reversibilitas ini dilakukan pada uji aktivitas agonis reseptor histamin. Uji reversibilitas terhadap ileum dilakukan setelah kontraksi dan pencucian organ akibat pemberian agonis dan senyawa DHPP. Ileum dicuci selama 30 menit dengan penggantian larutan *buffer tyrode* setiap lima menit. Setelah ileum mencapai kondisi stabil, dilakukan pengukuran kontraksi kembali karena pemberian agonis reseptor dengan konsentrasi yang sama dengan pengukuran

kontraksi pengenalan agonis reseptor. Kurva hubungan konsentrasi agonis reseptor yang dihasilkan kemudian dibandingkan antara pengukuran pertama dan kedua.

Uji Pelarut Dimetil Sulfoksida (DMSO)

Waktu yang tepat untuk melakukan uji pengaruh DMSO adalah setelah pengenalan agonis reseptor. Ileum dicuci selama 45 menit dengan penggantian larutan buffer tyrode setiap lima belas menit. Jumlah DMSO yang diberikan adalah sebanyak 100 µL dan kemudian dilanjutkan dengan pemberian seri konsentrasi agonis. Kemudian dibandingkan antara kurva hubungan konsentrasi agonis terhadap % respon sebelum dan sesudah perlakuan DMSO.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji pelarut DMSO terhadap kontraksi otot polos ileum

Sebagai uji pendahuluan dilakukan uji pengaruh DMSO terhadap kontraksi otot polos ileum yang diinduksi oleh histamin. Jumlah DMSO yang digunakan adalah sebanyak 100 µL yang disesuaikan dengan volume maksimal pemberian senyawa DHPP ke dalam *organ bath*. Pengaruh DMSO terhadap otot polos ileum yang diinduksi oleh histamin, dan berikut pergeseran nilai pD₂ tersaji pada Tabel 2. Meskipun demikian, berdasarkan uji t berpasangan (n=5) penurunan nilai pD₂ histamin tidak bermakna secara statistik (p> 0,05), sehingga disimpulkan pelarut DMSO 100 µL tidak mempengaruhi kontraksi otot polos ileum yang diinduksi oleh histamine (Kontrol).

Tabel 2. Nilai rata-rata pD₂ histamin karena pengaruh DMSO 100µL (n=5, rata-rata ± SEM). Berdasarkan uji signifikansi menggunakan paired t-test dengan kepercayaan 95 %, tidak menunjukkan

adanya perbedaan bermakna (p>0,05) antara perlakuan pD₂ kontrol dan DMSO.

NO	Kelompok Perlakuan	pD ₂	Emaks (%)
1	Kontrol	5,84 ±	100 ± 0,00
	Histamin	0,12	
2	DMSO	5,72±	100 ± 0,00
	100 µM	0,13	

Uji Pembanding menggunakan Difenhidramin (Kontrol Positif)

Uji pembanding dilakukan menggunakan difenhidramin dengan metode yang sama persis dengan perlakuan. Difenhidramin merupakan antagonis reseptor H₁ generasi pertama dengan efek sedatif dan anti alergi. Difenhidramin secara kompetitif menghambat reseptor H₁. Biasanya digunakan untuk gejala-gejala yang diakibatkan histamin endogen pada bronkus, pembuluh darah dan otot polos pencernaan. Tujuan dilakukannya uji difenhidramin sebagai pembanding adalah untuk melihat apakah zat uji bisa berefek sama dengan obat antihistamin yang digunakan sebagai kontrol positif.

Tabel 3. Pergeseran nilai pD₂ histamin karena pengaruh difenhidramin 0,01 dan 0,05 µM. nilai pD₂ disajikan dalam bentuk rata-rata ± SEM (n=5-10). Hasil menunjukkan adanya perbedaan bermakna (p<0,05) terhadap nilai pD₂ histamin/kontrol (*), setelah diuji dengan ANOVA satu jalan, dilanjutkan dengan uji LSD pada taraf kepercayaan 95 %.

No	Kelompok perlakuan	pD ₂	Emaks(%)
1	Kontrol Histamin	6,10± 0,16	100 ± 0,00
2	Difenhidramin 0,01 µM	5,67± 0,09	100 ± 0,00
3	Difenhidramin 0,05 µM	5,15± 0,23*	100 ± 0,00

Pengaruh Senyawa DHPP terhadap Kontraksi Otot Polos Ileum Akibat Pemberian Seri Konsentrasi Histamin.

Digunakan senyawa DHPP dengan konsentrasi sebesar 10 dan 20 µM. Senyawa tersebut diberikan 10 menit sebelum pemberian seri kadar histamin. Dari uji ini akan di dapat data berupa kurva hubungan antara seri konsentrasi histamin dengan % respon kontraksi otot polos yang terdapat pada ileum yang terisolasi dalam media larutan berupa buffer tyrode. Apabila terjadi pergeseran % respon kontraksi otot polos ileum akibat pemberian senyawa DHPP, maka diduga senyawa DHPP memiliki aktivitas antagonisme pada reseptor histamin. Aktivitas antagonisme tersebut dapat diukur dengan membandingkan nilai pD₂ histamin dengan dan tanpa praperlakuan dari senyawa DHPP. Berdasarkan jenis antagonisme dan nilai parameter antagonis (pA₂) senyawa DHPP terhadap reseptor histamin dapat diukur dan diidentifikasi dengan menggunakan analisa Schild-Plot. Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa senyawa DHPP dengan kadar 10 dan 20 µM dapat menggeser kurva hubungan konsentrasi agonis dengan % respon kontraksi ke kanan. Pergeseran

kurva ke kanan menandakan bahwa senyawa yang diujikan dapat menghambat atau bersifat antagonis.

Respon kontraksi otot polos ileum 100% masih dapat tercapai dalam konsentrasi 3×10^{-4} M. Pergeseran kurva hubungan seri konsentrasi histamin terhadap rata-rata % respon kontraksi otot polos ileum tersaji pada gambar 5. Pada praperlakuan senyawa DHPP 10 µM, respon kontraksi bahkan belum terlihat sampai pada pemberian histamin kadar 3×10^{-6} M. Hal ini berbeda dengan praperlakuan senyawa DHPP 20 µM, respon kontraksi mulai terlihat pada kadar histamin lebih rendah yaitu 3×10^{-5} M.

Besar nilai pD₂ kelompok kontrol, senyawa DHPP 10 µM, senyawa DHPP 20 µM tersebut berturut-turut adalah sebesar 5,84; 5,54 dan 5,49. Apabila dibandingkan dengan kelompok kontrol, Penurunan nilai pD₂ kelompok senyawa DHPP 20 µM bermakna signifikan secara statistik ($p < 0,05$). Sedangkan nilai pD₂ untuk perlakuan senyawa DHPP 10 µM tidak berbeda signifikan bila dibandingkan dengan kontrol. Data penurunan nilai pD₂ tersebut tersaji pada Tabel 4. Penurunan nilai pD₂ ini menunjukkan bahwa senyawa DHPP memiliki aktivitas antagonisme pada reseptor histamin. Kemudian, dilakukan penetapan tipe antagonisme senyawa DHPP dengan menggunakan analisis Schild-Plot. Dari analisis ini didapatkan persamaan Schild-Plot $y = 0,895x + 1,650$. Berdasarkan nilai slope dari persamaan Schild-Plot (0,895) nilainya mendekati angka 1,00, sehingga diketahui aktivitas antagonisme dari senyawa DHPP pada reseptor histamin bersifat kompetitif. Nilai pA₂ senyawa DHPP sebagai antagonis kompetitif dapat ditentukan dari nilai intersep

persamaan *Schild-plot*, yaitu sebesar 1,650. Untuk memastikan kekuatan interaksi antara senyawa DHPP dengan reseptor histamin sebagai antagonis kompetitif.

Tabel 4. Pergeseran nilai pD_2 histamin karena pengaruh senyawa DHPP 10 dan 20 μM . nilai pD_2 disajikan dalam bentuk rata-rata \pm SEM ($n = 4 - 10$). (*) menunjukkan adanya perbedaan bermakna ($p < 0,05$) terhadap nilai pD_2 h histamin/kontrol, setelah diuji dengan *ANOVA* satu jalan, dilanjutkan dengan uji LSD pada taraf kepercayaan 95 %.

No	Kelompok perlakuan	pD_2	Emaks
1	Kontrol Histamin	5,84	$100 \pm 0,00$
2	Senyawa DHPP 100 μM	5,54*	$100 \pm 0,00$
3	Senyawa DHPP 200 μM	5,49*	$100 \pm 0,00$

Uji Reversibilitas senyawa DHPP terhadap Reseptor Histamin Ileum.

Uji reversibilitas senyawa DHPP terhadap reseptor H_1 dilakukan untuk mengetahui kemampuan disosiasi ikatan senyawa obat dengan reseptor H_1 otot polos ileum. Untuk melepaskan ikatan senyawa tersebut, dilakukan pencucian otot polos ileum dengan penggantian larutan *buffer tyrode* setiap 10 menit selama 30 menit. Data yang diperoleh dari tahapan ini adalah kurva % respon kontraksi uji reversibilitas dengan konsentrasi 10 μM dan 20 μM (Gambar 7). Pada Gambar 7, terlihat profil kurva respon kontraksi kelompok konsentrasi 10 dan 20 μM relatif sama. Namun kurva kelompok

senyawa DHPP 20 μM berbeda jika dengan kurva kelompok kontrol. Oleh karena itu diketahui bahwa respon kontraksi maksimal otot polos ileum semua kelompok masih dapat dicapai pada konsentrasi

histamin 3×10^{-4} M. Pergeseran nilai pD_2 histamin pada uji reversibilitas senyawa DHPP tersaji Tabel 5. Nilai pD_2 histamin mengalami penurunan yang signifikan pada saat uji reversibilitas senyawa DHPP. Oleh karena itu dapat disimpulkan bahwa, dengan pencucian setiap 10 menit selama 30 menit ikatan senyawa DHPP dengan reseptor H_1 masih belum terlepas total.

Tabel 5. Pergeseran nilai pD_2 histamin karena pengaruh senyawa DHPP 10 dan 20 μM . nilai pD_2 disajikan dalam bentuk rata-rata \pm SEM ($n = 4 - 10$). (*) menunjukkan adanya perbedaan bermakna ($p < 0,05$) terhadap nilai pD_2 h histamin/kontrol, setelah diuji dengan *ANOVA* satu jalan, dilanjutkan dengan uji LSD pada taraf kepercayaan 95 %.

No	Kelompok Perlakuan	pD_2	Emaks
1	Kontrol Histamin	5,84	$100 \pm 0,00$
2	Senyawa DHPP 100 μM	5,87	$100 \pm 0,00$
3	Senyawa DHPP 200 μM	5,71*	$100 \pm 0,00$

Pembahasan

Senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon termasuk senyawa alkaloid. Alkaloid digolongkan berdasarkan struktur kimianya. Alkaloid golongan tropan dapat digunakan sebagai antispasmodik, antikolinergik, antiasma dan midriatik (Wibowo, 2013).

Penelitian ini akan menguji aktivitas farmakologi senyawa DHPP sebagai antispasmodik dengan membuktikan aktivitas antagonis senyawa DHPP pada reseptor H₁. Reseptor tersebut diketahui banyak terdistribusi pada ileum, dan berfungsi mengatur proses kontraksi dan relaksasi. Penelitian aktivitas senyawa DHPP sebagai antagonis reseptor H₁ ini dilakukan dengan menggunakan otot polos ileum dalam media larutan *buffer tyrode* pada alat organ terisolasi. Metode organ terisolasi adalah suatu metode dalam percobaan farmakologi yang dapat digunakan untuk menganalisis hubungan konsentrasi dengan respon suatu senyawa obat. Dengan metode ini, konsentrasi agonis dan antagonis reseptor pada tingkat jaringan dapat diketahui secara pasti. Metode ini mempunyai kemampuan untuk mengukur efek sampai pada efek dengan intensitas maksimum. Hal ini tidak sepenuhnya dapat dilakukan ketika menggunakan organisme utuh (pengujian secara *in vivo*). Selain memiliki beberapa kelebihan, metode ini memiliki beberapa kelemahan yaitu *buffer tyrode* yang digunakan tidak sepenuhnya sesuai dengan larutan fisiologis tubuh, sehingga apabila terlalu lama maka akan mematikan jaringan (Lullman *et al.*, 2000).

Selain itu, isolasi organ dalam alat ini akan mengakibatkan hilangnya fungsi regulasi fisiologis pada organ tersebut. Fungsi regulasi dari enzim yang terlibat dalam degradasi histamin yang merupakan induktor kontraksi otot polos ileum juga akan hilang pada saat fase ini. Pada akhirnya, respon kontraksi-relaksasi otot polos ileum yang merupakan fungsi homeostasis normal pada organ ini tidak terbaca lagi pada

detektor. Ketika histamin berinteraksi dengan reseptor H₁ ileum, maka akan terjadi kontraksi otot polos ileum. Alkaloid senyawa DHPP dikatakan memiliki aktivitas sebagai antagonis reseptor H₁ apabila mampu mengurangi potensi histamin dalam menginduksi respon kontraksi otot polos ileum marmut terisolasi (Lullmann *et al.*, 2000).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa DHPP 10 dan 20 μM mampu menghambat respon kontraksi otot polos ileum marmut terisolasi yang diinduksi oleh seri konsentrasi histamin. Hal ini ditandai dengan terjadinya pergeseran histamin kurva respon kontraksi otot polos ileum terisolasi ke arah kanan dengan pola tergantung dosis. Selain itu juga terjadi penurunan harga PD₂ senyawa DHPP dengan dosis 10 μM dan 20 μM secara berturut-turut dari 5,84 menjadi 5,54 dan 5,49. Pada kurva hubungan logaritma konsentrasi histamin terhadap % respon kontraksi otot polos ileum, respon kontraksi maksimum masih dapat tercapai pada pemberian histamin konsentrasi tinggi, meskipun ada pengaruh antagonis, pemberian agonis dengan konsentrasi yang lebih besar akan tetap mampu memicu respon maksimum.

Mekanisme ini memperlihatkan persaingan antara DHPP dengan histamin untuk menduduki reseptor histamin. Senyawa DHPP dapat menduduki tempat ikatan yang sama dengan histamin pada sisi aktif reseptor sel target, tanpa mengakibatkan terjadinya perubahan di dalam sel (kontraksi). Pemberian histamin dengan konsentrasi tertinggi pada reseptor akan menghasilkan respon maksimum setelah sebelumnya diturunkan oleh senyawa DHPP.

Hal ini merupakan salah satu ciri khas dari antagonis kompetitif. Aktivitas senyawa DHPP sebagai antagonis kompetitif diperkuat oleh hasil analisa Schild-Plot, dimana nilai *slope* kurva Schild-Plot yang dihasilkan mendekati angka satu (0,895). Berdasarkan percobaan dengan organ terisolasi ini juga diketahui afinitas senyawa DHPP bersifat relatif lemah terhadap reseptor histamin dengan nilai PA_2 sebesar 1,650, sehingga diperkirakan potensi senyawa DHPP sebagai antagonis reseptor H_1 tidak terlalu tinggi. Kemudian dari hasil uji reversibilitas diketahui bahwa ikatan senyawa DHPP terhadap reseptor H_1 masih belum terdisosiasi total apabila dilakukan pencucian menggunakan *buffer tyrode* setiap 10 menit selama 30 menit.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

1. Senyawa DHPP memiliki aktifitas sebagai antagonisme kompetitif terhadap reseptor H_1 pada ileum marmut terisolasi ($pA_2 = 1,650$).
2. Dosis optimal DHPP dapat memberikan efek antagonsme reseptor Histamin pada ileum marmut terisolasi yaitu $20 \mu M$.

Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai selektivitas senyawa DHPP terhadap subtype reseptor histamin.
2. Perlu dilakukan penelitian yang dapat mengevaluasi kemampuan senyawa DHPP dalam menembus sistem sawar darah-otak dan kemampuannya dalam menginduksi munculnya efek samping terhadap sistem syaraf pusat.
3. Perlu dilakukan beberapa penelitian lanjutan yang mengeksplorasi aktivitas anti-alergi senyawa DHPP secara *in vivo* dengan

menggunakan model hewan percobaan, sehingga didapatkan data yang lebih lengkap mengenai aktivitas antihistamin.

DAFTAR PUSTAKA

- Alam, S. 2004. "Synthesis antibacterial and antifungal activity of some derivates of 2-phenyl-chromen-4-one". *J. Chem. Sci*
- Anonim, 1986, Mid Career Training in Pharmacology, Fakultas Farmasi UGM, Yogyakarta
- Anonim, Acuan Sediaan Herbal. 2000, Jakarta, 2: Cetakan 1, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Direktorat Jendral Pengawasan Obat Dan Makanan Dan Direktorat Pengawasan Obat Tradisional
- Gandjar, I. G. dan Rohman. A, 2007, Kimia Farmasi Analisis. Yogyakarta: Pustaka Pelajar
- Hayashi, A., Gillen, A. & Loot, J.R. 2000. Effects of daily oral administration of quercetin chalcone and modified citrus pectin on implated colon-25 tumor growth in balb-c mice. *Alternative Medicine Review*
- Indonesia, Badan POM - Direktorat Obat Asli. 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon (L.) Correa, 2008: 4.
- Katzung, b.g., Masters, S.B., dan Trevor, A.J.(2000), Basic and Clinical Pharmacology, 4th Edition, McGraw-Hill Company
- Lullmann, H., Mohr, K., Ziegler, A., Dan Bieger, D., 2000, Color Atlas Of Pharmacology. New York: Second Edition Thieme
- Offermanns, S., Rosenthal, W., 2008, Encyclopedia of Molecular Pharmacology, 2nd ed., Springer-Verlag, New York.
- Palleros, D.R. 2000. Experimental Organic Chemistry. John Willey and Sons, New York.

- Quigley EMM Keohane J. Dyspepsia. Curr Opin Gastroenterol. 2006
- Setiyani. A.R. 2016, “Uji Aktivitas Antagonisme Senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon Pada Reseptor Ach-M₃ Ileum Marmut Terisolasi : Studi In Vitro dan In Silico”, Yogyakarta: UMY
- Tafsir Luqman ayat 10. (2015). from www.tafsir.web.id
- Usman, H., Hakim, E.H., Achmad, S.A., Harlim, T., Jalaluddin, M.N., Syah, Y.M., Juliawati, L.D., Makmur, L. & Katajima, M. 2005. 2',4'-dihidroksi-3',5',6'-Trimetoksi Kalkon suatu Senyawa Antitumor dari Kulit Batang Tumbuhan *Cryptocarya costata* (Lauraceae). *Jurnal Matematika dan Sains*.
- Vender, B., Haemers, A. & Vlieunek, A. J. 1993. In bioactive natural products; detection and structural determination. Ed.Collegate, S.M and Molyneux. *CRC Press*
- Wibowo, A.E. 2013, “Sintesis dan Uji Aktifitas Antiinflamasi Senyawa 1-(2,5dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon”, Yogyakarta: UGM