

KAJIAN REVERSIBILITAS INTERAKSI MARMIN TERHADAP RESEPTOR HISTAMIN H_1 , ASETILKOLIN MUSKARINIK Ach- M_3 dan β_2 -ADRENERGIK

Yance Anas¹⁾, Agung Endro Nugroho²⁾, Sugeng Riyanto³⁾

¹⁾ Bagian Farmakologi dan Farmasi Klinik Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang

²⁾ Bagian Farmakologi dan Farmasi Klinik Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta

³⁾ Bagian Kimia Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta

ABSTRAK

Penelitian terdahulu menyimpulkan bahwa marmin (7-(6',7'-dihidroksigeranyl-oksi) kumarin) dapat menghambat kontraksi otot polos trakea marmut terisolasi melalui efeknya sebagai antagonis reseptor H_1 dan Ach- M_3 . Marmin juga sedikit meningkatkan efek relaksasi otot polos trakea yang diinduksi oleh isoproterenol melalui interaksinya terhadap reseptor β_2 -adrenergik. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efek reversibilitas interaksi marmin terhadap reseptor H_1 , Ach- M_3 dan β_2 -adrenergik. Penelitian ini menggunakan metode percobaan organ terisolasi. Uji reversibilitas dilakukan setelah perlakuan marmin (10 dan 100 μ M) terhadap kontraksi/relaksasi otot polos trakea yang diinduksi oleh agonis (histamin, metakolin dan isoproterenol). Otot polos trakea dicuci selama 30 menit dengan penggantian larutan bufer Krebs setiap lima menit. Setelah dicapai kondisi yang stabil, selanjutnya dilakukan pengukuran kontraksi atau relaksasi kembali dengan pemberian konsentrasi bertingkat histamin (10^{-8} – 10^{-3} M), metakolin (10^{-8} – 10^{-3} M) dan isoproterenol (1×10^{-7} – 3×10^{-3} M). Data disajikan dalam bentuk nilai pD_2 (rata-rata \pm SEM) yang diperoleh dari kurva hubungan negatif logaritma konsentrasi agonis yang menghasilkan setengah respon (kontraksi/relaksasi) maksimal. Hasil penelitian menunjukkan bahwa interaksi marmin terhadap protein reseptor H_1 , Ach- M_3 , dan β_2 -adrenergik otot polos trakea bersifat reversibel. Hasil analisis varian satu jalan menyimpulkan perbedaan nilai pD_2 histamin, metakolin dan isoproterenol sebelum dan setelah perlakuan marmin tidak bermakna secara statistik ($p > 0,05$).

Kata Kunci : Farmakodinamik marmin, uji reversibilitas, reseptor H_1 , Ach- M_3 dan β_2 -adrenergik, percobaan organ terisolasi

ABSTRACT

Previous studies concluded that amarmin (7 - (6', 7'-dihydroxygeranyl-oxy) coumarin) shown to inhibit isolated guinea-pig tracheal smooth muscle contraction through its effect as an H_1 and Ach- M_3 receptor's antagonist. Marmin also slightly increases tracheal smooth muscle relaxation induced by isoproterenol through its interaction on β_2 -adrenergic receptor. The purpose of this experimental study was to evaluate the reversibility of marmin interaction on H_1 , Ach- M_3 and β_2 -adrenergic receptors. The study conducted using in vitro isolated-trachea experimental. Reversibility studies performed after marmin (10 and 100) μ M treatment on tracheal smooth muscle contraction/relaxation induced by agonists (histamine, methacholine and isoproterenol). Trachea was washed for 30 minutes with Krebs buffer solution replacement every five minutes. Furthermore, trachea contracted or relaxed with series histamine (10^{-8} – 10^{-3}) M; methacholine (10^{-8} – 10^{-3}) M and isoproterenol (10^{-7} – $3 \cdot 10^{-3}$) M. Data were expressed as mean \pm SEM. The pD_2 values are derived from the negative logarithm to base 10 of the agonist's concentration which cause a half maximal response to the contraction or relaxation. The results showed that the marmin interaction on H_1 , Ach- M_3 , and β_2 -adrenergic receptors are reversible. One-way Anova concluded that histamine, metacholine and isoproterenol pD_2 value before and after marmin (10 and 100) μ M treatments are not different statistically ($p > 0.05$).

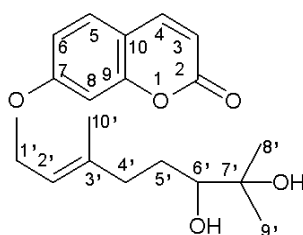
Key Word : Marmin reversibility studies, H_1 , Ach- M_3 and β_2 -adrenergic receptors, isolated organ experimen

PENDAHULUAN

Salah satu gejala alergi adalah kontraksi otot polos trakea yang mengakibatkan penyempitan saluran pernafasan. Histamin dan asetilkolin memainkan peranan penting dalam kontraksi otot polos saluran pernafasan. Aktivasi reseptor histamin (H_1) oleh histamin dapat menginduksi penyumbatan saluran pernafasan pada subjek manusia sehat (Taylor-Clark, *et.al.* 2005). Begitu juga dengan asetilkolin, efek asetilkolin yang dilepaskan oleh ujung syaraf parasimpatis dan berbagai sel epitel bronkus adalah terjadinya hipereaktivitas saluran pernafasan, kontraksi otot polos, bronkokonstriksi, peningkatan sintesis dan sekresi mukus selama reaksi inflamasi, seperti yang dialami oleh para penderita asma alergi dan *chronic obstruction pulmonary disease* (COPD) (Sonar dan Renz, 2009). Oleh karena itu, salah satu strategi terapi yang dapat dilakukan dalam mengatasi gejala alergi pada saluran pernafasan adalah dengan menghambat interaksi histamin dan atau asetilkolin dengan reseptor spesifiknya, yaitu dengan antagonis reseptor histamin (antihistamin) dan antagonis reseptor asetilkolin muskarinik (antikolinergik). Selanjutnya, untuk mempercepat efek pemulihan saluran pernafasan, otot polos saluran pernafasan direlaksasi dengan

menggunakan agonis reseptor β_2 -adrenergik (Barnes, 1989).

Marmin (gambar 1) merupakan salah satu senyawa turunan kumarin dengan substitusi atom O pada atom C nomor 7 struktur induk kumarin. Marmin dilaporkan sangat poten menghambat pelepasan histamin dari kultur sel RBL-2H3 melalui penghambatan Ca^{2+} uptake secara *in vitro*. Marmin juga diduga memiliki potensi yang baik untuk dikembangkan sebagai antagonis reseptor histamin H_1 dan antagonis reseptor asetilkolin muskarinik (Ach- M_3). Isolat marmin dari *Aurantii Fructus Immaturus* memiliki efek relaksasi terhadap ileum marmut terisolasi yang dikontraksi oleh asetilkolin dan histamin (Takase, *et.al.*, 1994). Marmin dilaporkan menghambat kontraksi otot polos trakea marmut terisolasi melalui efeknya sebagai antagonis reseptor H_1 dan Ach- M_3 . Marmin juga sedikit meningkatkan efek relaksasi otot polos trakea yang diinduksi oleh isoproterenol melalui interaksinya dengan reseptor β_2 -adrenergik (Nugroho, *et.al.*, 2011). Penelitian ini mencoba untuk menelusuri lebih lanjut tentang interaksi marmin terhadap reseptor H_1 , Ach- M_3 dan β_2 -adrenergik otot polos trakea terisolasi dengan cara melihat kemampuan disosiasi ikatan marmin dengan ketiga reseptor tersebut setelah dilakukannya pencucian otot polos trakea dengan penggantian larutan bufer Krebs setiap lima menit selama 30 menit.



Gambar 1. Struktur Kimia marmin atau (7-(6',7'-dihidroksigeranil-oksi) kumarin)

METODE PENELITIAN

Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah marmin yang diisolasi dari kulit batang *Aegle marmelos* Correa pemberian Prof. Dr. Sugeng Riyanto, M.S., Apt., (Bagian Kimia Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta). Hewan percobaan yang digunakan adalah marmut jantan (*Cavia*

porcellus), berat badan antara 400 – 500 gram yang diperoleh dari Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi Fakultas Farmasi UGM. Bahan kimia yang digunakan adalah bufer Krebs dengan kualitas farmasetis, gas karbogen mengandung 95% oksigen dan 5% karbondioksida (PT. Aneka Gas dan Industri Semarang Cabang Yogyakarta), agonis reseptor histamin, metakolin, isoproterenol (Sigma, USA), dan akuades

(Laboratorium Kimia Instrumental, Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada).

Cara Penelitian

Penyediaan larutan uji, marmin dibuat dalam larutan stok 2×10^{-2} M, yaitu dengan cara menimbang marmin (BM : 332,38 g/mol) secara seksama seberat 33,2 mg dan dilarutkan ke dalam 4,994 mL DMSO. Larutan stok marmin 2×10^{-3} M dibuat dengan mengencerkan larutan stok marmin 2×10^{-2} M dipreparasi sedemikian rupa dimasukkan ke dalam alat organ bath 20,0 mL yang telah berisi larutan bufer Krebs. Uji reversibilitas dilakukan untuk melihat kemampuan organ untuk kembali pada kondisi semula, atau pada kondisi sebelum dilakukannya pengenalan histamin, metakolin dan isoproterenol (agonis reseptor).

Tahap pertama yang dilakukan dalam penelitian ini adalah mengukur respon kontraksi otot polos trakea yang diinduksi oleh seri konsentrasi histamin dan metakolin (10^{-8} – 10^{-3} M), serta respon relaksasi otot polos trakea yang diinduksi oleh isoproterenol (10^{-7} – 3.10^{-3} M) setelah dikontraksi dengan metakolin 10^{-4} M. Respon kontraksi/relaksasi otot polos trakea tercatat pada rekorder. Pada tahap ini didapatkan data kurva hubungan logaritma konsentrasi histamin, metakolin dan isoproterenol terhadap % respon kontraksi/relaksasi otot polos trakea (kontrol). Selanjutnya, dilakukan pencucian otot polos trakea selama 30 menit dengan penggantian larutan bufer Krebs setiap lima menit.

Tahap kedua, dilakukan uji aktivitas marmin (10 dan 100 μ M). Marmin diberikan 5 menit sebelum pemberian seri konsentrasi agonis reseptor (histamin, metakolin dan isoproterenol) dan dilanjutkan dengan pemberian seri konsentrasi agonis reseptor dengan konsentrasi dan cara yang sama dengan pengukuran pertama kalinya. Tahap selanjutnya, kembali dilakukan pencucian otot polos trakea selama 30 menit dengan penggantian larutan bufer Krebs setiap lima menit.

Tahap ketiga adalah uji reversibilitas marmin. Setelah dicapai kondisi yang stabil pada pencucian otot polos trakea tahap kedua, selanjutnya dilakukan pengukuran kontraksi/relaksasi otot polos trakea kembali melalui pemberian seri konsentrasi histamin, asetilkolin dan isoproterenol dengan konsentrasi dan cara yang sama pada saat

dengan larutan bufer Krebs. Sebagai senyawa uji, marmin diberikan dalam konsentrasi 10 dan 100 μ M. Larutan stok marmin konsentrasi 2×10^{-2} M diinjeksikan sebanyak 100 μ L ke dalam *organ bath* yang telah berisi organ trakea dan larutan bufer Krebs 20,0 mL untuk mencapai marmin konsentrasi 100 μ M.

Penelitian dilakukan dengan menggunakan metode organ terisolasi, otot polos trakea yang telah

pengukuran respon kontraksi otot polos trakea pertama kali. Pada uji reversibilitas ini, didapatkan data kurva hubungan logaritma konsentrasi histamin, metakolin dan isoproterenol terhadap % respon kontraksi/relaksasi otot polos trakea. Data kurva hubungan logaritma konsentrasi histamin, metakolin dan isoproterenol dengan % respon kontraksi/relaksasi otot polos trakea sebelum dan setelah perlakuan marmin (10 dan 100 μ M) kemudian dibandingkan secara statistik.

Analisa Data

Data yang diperoleh dalam penelitian ini berupa data kontraksi atau relaksasi otot polos trakea yang terekam pada rekorder akibat pemberian agonis reseptor. Data tersebut diubah menjadi data persentase (%) respon kontraksi atau relaksasi terhadap respon maksimum yang dicapai kontrol. Selanjutnya, data tersebut disajikan dalam bentuk kurva hubungan antara logaritma konsentrasi agonis reseptor (histamin, metakolin, dan isoproterenol) terhadap % respon kontraksi atau relaksasi otot polos trakea. Dari kurva tersebut dihitung pD_2 histamin, pD_2 metakolin, pD_2 isoproterenol sebelum dan setelah perlakuan marmin dan dibandingkan secara statistik. Analisa statistik yang digunakan adalah analisa varian satu jalan yang dilanjutkan dengan uji Tukey pada taraf kepercayaan 95%.

HASIL PENELITIAN

Marmin telah terbukti memiliki aktivitas sebagai antagonis reseptor H_1 dan $Ach-M_3$, dan mampu meningkatkan efek relaksasi isoproterenol pada otot polos trakea marmot terisolasi. Penelitian ini ditujukan untuk mengamati kemampuan disosiasi ikatan marmin dengan reseptor H_1 , $Ach-M_3$ dan β_2 -adrenergik otot polos trakea setelah dilakukannya pencucian otot polos trakea

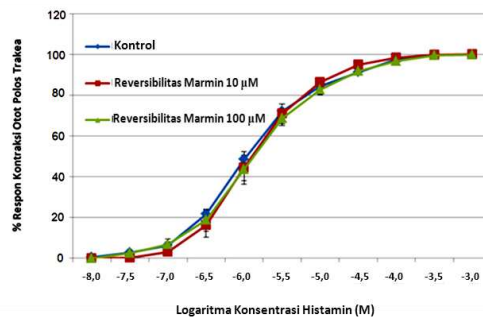
dengan penggantian larutan bufer Krebs setiap lima menit selama 30 menit.

Uji Reversibilitas Marmin terhadap Reseptor H_1 Otot Polos Trakea

Tujuan uji reversibilitas marmin terhadap reseptor H_1 adalah untuk melihat kemampuan disosiasi ikatan marmin dengan reseptor H_1 otot polos trakea setelah dilakukannya pencucian otot polos trakea dengan penggantian larutan bufer Krebs setiap lima menit selama 30 menit. Sifat antagonisme marmin dikatakan reversibel apabila pemberian seri konsentrasi histamin setelah praperlakuan otot polos trakea terisolasi dengan marmin menghasilkan profil kurva % respon kontraksi yang persis sama dengan profil kurva sebelum praperlakuan marmin. Kurva % respon kontraksi otot polos trakea pada uji reversibilitas marmin 10 dan 100 μM dapat dilihat pada gambar 2.

Hasil uji reversibilitas menunjukkan bentuk profil kurva hubungan respon kontraksi otot polos trakea terisolasi histamin (kontrol), reversibilitas marmin 10 dan 100 μM yang

relatif sama, sehingga dapat disimpulkan marmin memiliki kemampuan disosiasi yang baik setelah berinteraksi dengan reseptor H_1 dan interaksi marmin dengan reseptor H_1 bersifat reversibel. Tidak adanya penurunan respon kontraksi maksimal otot polos trakea pada saat uji reversibilitas marmin menunjukkan bahwa pencucian otot polos trakea dengan penggantian larutan bufer Krebs setiap lima menit selama 30 menit mampu melepaskan semua ikatan marmin dengan reseptor H_1 otot polos trakea. Selain itu, interaksi marmin dengan reseptor H_1 tidak mengakibatkan kerusakan atau berkurangnya jumlah reseptor H_1 yang aktif pada otot polos trakea. Pergeseran nilai pD_2 histamin pada uji reversibilitas marmin tersaji pada gambar 3. Dari hasil uji statistik, disimpulkan bahwa nilai pD_2 histamin tidak mengalami penurunan yang bermakna pada saat uji reversibilitas marmin, sehingga secara keseluruhan dapat disimpulkan bahwa marmin bertindak sebagai reversibel antagonis kompetitif terhadap reseptor H_1 .



Gambar 2. Kurva hubungan logaritma konsentrasi histamin (M) terhadap % respon kontraksi otot polos trakea terisolasi pada uji reversibilitas marmin 10 dan 100 μM terhadap reseptor H_1 . Persentase respon kontraksi disajikan dalam bentuk rata-rata \pm SEM ($n = 5 - 8$)

Uji Reversibilitas Marmin terhadap Reseptor $Ach-M_3$ Otot Polos Trakea

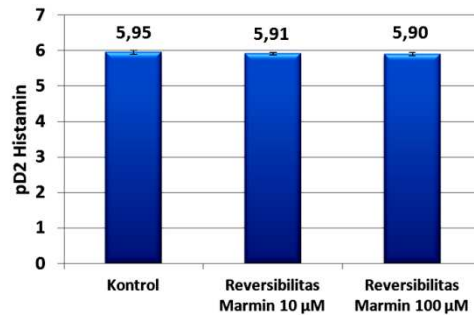
Uji reversibilitas marmin terhadap reseptor $Ach-M_3$ dilakukan setelah uji pengaruh praperlakuan marmin terhadap respon kontraksi otot polos trakea terisolasi yang diinduksi oleh seri konsentrasi metakolin. Sebelum uji reversibilitas dimulai, otot polos trakea dicuci dengan penggantian larutan bufer Krebs setiap lima menit selama 30 menit. Tujuan uji reversibilitas marmin terhadap reseptor $Ach-M_3$ adalah untuk

melihat kemampuan disosiasi ikatan marmin dengan reseptor $Ach-M_3$ otot polos trakea setelah dilakukannya pencucian otot polos trakea. Kurva % respon kontraksi otot polos trakea pada uji reversibilitas marmin (10 dan 100) μM terhadap reseptor $Ach-M_3$ dapat dilihat pada gambar 4. Pergeseran nilai pD_2 metakolin pada uji reversibilitas marmin terhadap reseptor $Ach-M_3$ tersaji pada gambar 5.

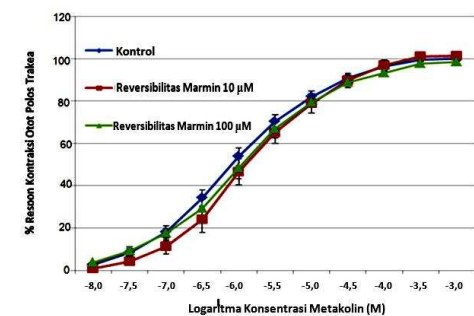
Hasil uji reversibilitas menunjukkan bahwa profil kurva hubungan respon kontraksi

otot polos trakea terisolasi uji reversibilitas marmin (10 dan 100) μM sedikit bergeser ke arah kanan dibandingkan profil kurva metakolin (kontrol), dan pergeseran kurva tersebut mengakibatkan penurunan harga pD_2 metakolin. Hasil uji statistik dengan Anava satu jalan menyimpulkan bahwa tidak terdapat

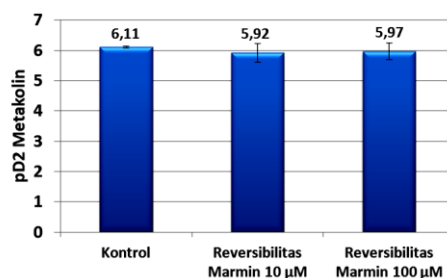
perbedaan yang bermakna antara nilai pD_2 metakolin (kontrol) dengan nilai pD_2 metakolin hasil uji reversibilitas marmin (10 dan 100) μM , sehingga dapat disimpulkan bahwa interaksi marmin dengan protein reseptor Ach-M3 otot polos trakea bersifat reversibel.



Gambar 3. Pergeseran nilai pD_2 histamin pada uji reversibilitas marmin 10 dan 100 μM terhadap reseptor H_1 . Nilai pD_2 disajikan dalam bentuk rata-rata \pm SEM ($n = 5-8$). Hasil analisa varian satu jalan tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p > 0,05$) terhadap nilai pD_2 histamin/control



Gambar 4. Kurva hubungan logaritma konsentrasi metakolin (M) terhadap % respon kontraksi otot polos trakea terisolasi pada uji reversibilitas marmin 10 dan 100 μM terhadap reseptor Ach-M₃. Persentase respon kontraksi disajikan dalam bentuk rata-rata \pm SEM ($n = 5-8$).



Gambar 5. Pergeseran nilai pD_2 metakolin pada uji reversibilitas marmin 10 dan 100 μM terhadap reseptor asetilkolin Ach-M₃. Nilai pD_2 disajikan dalam bentuk rata-rata \pm SEM ($n = 5-8$). Analisa varian satu jalan tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p > 0,05$) terhadap nilai pD_2 metakolin/control

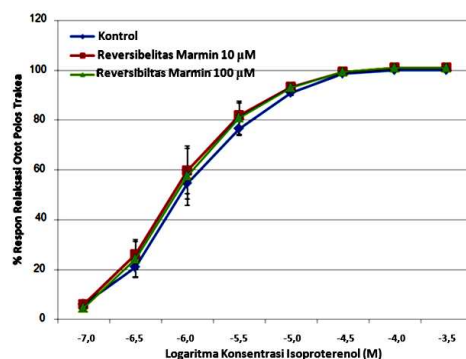
Uji Reversibilitas Marmin terhadap Reseptor β_2 -Adrenergik Otot Polos Trakea

Uji reversibilitas marmin terhadap reseptor β_2 -adrenergik dilakukan setelah uji pengaruh praperlakuan marmin terhadap

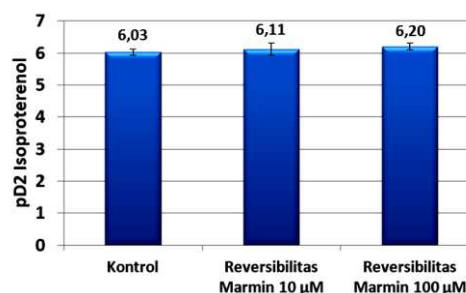
respon relaksasi otot polos trakea terisolasi yang diinduksi oleh seri konsentrasi isoproterenol. Sebelum uji reversibilitas dimulai, otot polos trakea dicuci dengan penggantian larutan bufer Krebs setiap lima menit selama 30 menit. Kurva % respon relaksasi otot polos trakea pada uji reversibilitas marmin 10 dan 100 μM terhadap reseptor β_2 -adrenergik dapat dilihat pada gambar 6. Pergeseran nilai pD_2 metakolin pada uji reversibilitas marmin terhadap reseptor Ach-M₃ tersaji pada gambar 7.

Hasil uji reversibilitas menunjukkan bahwa profil kurva hubungan respon kontraksi

otot polos trakea terisolasi pada uji reversibilitas marmin 10 dan 100 μM terlihat hampir berhimpitan dengan profil kurva kontrol. Hasil uji statistik dengan Anava satu jalan menyimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara nilai pD_2 isoproterenol (kontrol) dengan nilai pD_2 isoproterenol pada uji reversibilitas marmin 10 dan 100 μM ($p < 0,05$), sehingga dapat disimpulkan bahwa interaksi marmin dengan protein reseptor β_2 -adrenergik otot polos trakea bersifat reversibel.



Gambar 6. Kurva hubungan logaritma konsentrasi isoproterenol (M) terhadap % respon relaksasi otot polos trakea terisolasi pada uji reversibilitas karena pengaruh marmin 10 dan 100 μM terhadap reseptor β_2 -adrenergik. Persentase respon kontraksi disajikan dalam bentuk rata-rata \pm SEM ($n = 5-8$).



Gambar 7. Pergeseran nilai pD_2 isoproterenol pada uji reversibilitas marmin 10 dan 100 μM terhadap reseptor β_2 -adrenergik. Nilai pD_2 disajikan dalam bentuk rata-rata \pm SEM ($n = 5 - 8$). Analisa varian satu jalan tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p > 0,05$) terhadap nilai pD_2 isoproterenol/kontrol

Diskusi dan Pembahasan

Takase, *et.al.* (1994) melaporkan bahwa marmin memiliki efek relaksasi terhadap otot polos ileum marmut terisolasi yang diinduksi oleh histamin dan asetilkolin. Penelitian sebelumnya mengungkap marmin dapat menghambat kontraksi otot polos trakea marmut terisolasi melalui efeknya sebagai

antagonis reseptor H₁ dan Ach-M₃. Marmin juga sedikit meningkatkan efek relaksasi otot polos trakea yang diinduksi oleh isoproterenol melalui interaksinya dengan reseptor β_2 -adrenergik (Nugroho, *et.al.*, 2011). Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari efek reversibilitas interaksi marmin dengan reseptor H₁, Ach-M₃ dan β_2 -adrenergik.

Penelitian kajian reversibilitas marmin terhadap reseptor H_1 , Ach- M_3 dan β_2 -adrenergik ini dilakukan dengan menggunakan preparat otot polos trakea dalam media larutan buffer Krebs pada alat organ terisolasi. Metode organ terisolasi merupakan metode klasik dalam percobaan farmakologi yang dapat digunakan untuk menganalisa hubungan dosis-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 itu, metode ini juga dapat mengukur konsentrasi agonis terkecil yang dapat menginduksi respon biologis.

Metode ini memiliki beberapa kelemahan dan kurang menggambarkan kondisi di dalam tubuh manusia yang sebenarnya. Larutan bufer Krebs yang digunakan tidak sepenuhnya sama dengan cairan fisiologis dalam tubuh, sehingga lama kelamaan akan berpengaruh buruk terhadap jaringan. Selain itu, isolasi organ dalam alat ini akan mengakibatkan hilangnya fungsi regulasi fisiologis pada organ tersebut (Lullmann, *et.al.*, 2000). Pencucian otot polos trakea dengan pergantian larutan bufer Krebs selama 45 menit pada fase ekuilibrasi akan menghilangkan pengaruh senyawa relaksan seperti nitrogen oksida (NO) dan berbagai enzim yang dilepaskan oleh sel epitel trakea terhadap rangsangan senyawa spasmogen (Barnes, 1989). Fungsi regulasi dari enzim yang terlibat dalam degradasi histamin dan asetilkolin (induktor kontraksi otot polos trakea) juga akan hilang pada fase ekuilibrasi ini. Pada akhirnya, respon kontraksi-relaksasi otot polos trakea yang merupakan fungsi homeostasis normal pada organ ini tidak terbacakan lagi pada detektor.

Penelitian ini menyimpulkan bahwa interaksi marmin dengan reseptor H_1 bersifat reversibel. Uji reversibilitas menghasilkan profil kurva hubungan logaritma konsentrasi histamin terhadap % respon kontraksi otot polos trakea yang mirip dengan profil kurva sebelum dilakukan uji pengaruh marmin (kontrol) dan perbedaan nilai pD_2 histamin pada uji reversibilitas marmin (10 dan 100) μM tidak berbeda bermakna dibandingkan kontrol. Penelitian Nugroho, *et.al.* (2011)

menyimpulkan bahwa marmin memiliki afinitas yang relatif lemah terhadap reseptor H_1 dengan nilai pA_2 sebesar 2,302 sehingga diperkirakan potensi marmin sebagai antagonis reseptor H_1 tidak terlalu tinggi. Hal ini dapat diketahui lebih jelas dengan cara melihat bentuk ikatan dan kekuatan ikatan antara marmin dengan reseptor H_1 , sehingga memerlukan data penelitian lebih lanjut. Walaupun demikian, potensi marmin sebagai antihistamin dalam mengurangi gejala alergi secara *in vivo* perlu dilakukan karena marmin juga telah diketahui mampu menekan pelepasan histamin dari kultur sel mast (Nugroho, *et.al.*, 2008).

Berdasarkan berbagai laporan hasil penelitian terdahulu, antihistamin generasi pertama juga memiliki aktivitas sebagai antikolinergik (Repka-Ramirez dan Baraniuk, 2002). Reseptor Ach- M_3 adalah reseptor terikat protein G_q dan merupakan subtipe reseptor asetilkolin muskarinik utama yang bertanggung jawab terhadap kontraksi otot polos saluran pernafasan (Gosens, *et.al.*, 2006).

Penelitian Nugroho, *et.al.* (2011) juga menyimpulkan bahwa marmin memiliki aktivitas sebagai antagonis reseptor Ach- M_3 . Marmin 10 dan 100 μM mampu menurunkan nilai pD_2 metakolin secara berturut turut dari 6,18 menjadi 5,71 dan 5,59 ($p < 0,05$). Akan tetapi, peningkatan konsentrasi marmin tidak dapat menurunkan pD_2 metakolin secara bermakna ($p > 0,05$). Analisa Shild-Plot menghasilkan nilai *slope* sebesar 0, 1906 (menjauhi angka satu) sehingga dapat disimpulkan bahwa mekanisme antagonisme marmin terhadap reseptor Ach- M_3 bukan melalui mekanisme antagonism secara kompetitif. Marmin mungkin menghambat efek metakolin dengan cara berikatan pada bagian lain di luar sisi aktif reseptor Ach- M_3 , sehingga akan menghambat fungsi reseptor tersebut, atau bisa diakibatkan karena marmin memediasi perubahan reaktivitas reseptor terhadap metakolin. Hasil uji reversibilitas ini menyimpulkan bahwa interaksi marmin dengan reseptor Ach- M_3 bersifat reversibel dimana profil kurva respon kontraksi otot polos trakea kembali menyerupai profil kurva kontrol setelah dilakukan pencucian otot polos trakea dengan penggantian larutan bufer Krebs tiap lima menit selama 30 menit.

Aktivasi reseptor β_2 -adrenergik yang terdapat pada otot polos trakea akan

menginduksi respon relaksasi yang dapat melonggarkan saluran pernafasan. Agonis reseptor β_2 -adrenergik merupakan salah satu obat yang digunakan dalam gangguan saluran pernafasan, termasuk dalam mengobati kontraksi saluran nafas karena asma dan alergi (Johnson, 2006). Penelitian Nugroho, *et.al.* (2011) menunjukkan bahwa marmin marmin memiliki afinitas yang lemah terhadap reseptor β_2 -adrenergik, sehingga peningkatan efek relaksasi otot polos trakea terisolasi karena pemberian seri konsentrasi isoproterenol belum terlihat signifikan. Penelitian ini juga memperlihatkan bahwa interaksi marmin dengan reseptor β_2 -adrenergik bersifat reversibel dimana profil kurva respon kontraksi otot polos trakea kembali menyerupai profil kurva kontrol setelah dilakukan pencucian otot polos trakea dengan penggantian larutan bufer Krebs tiap lima menit selama 30 menit.

KESIMPULAN

Interaksi marmin terhadap protein reseptor H_1 , Ach- M_3 , dan β_2 -adrenergik otot polos trakea bersifat reversibel. Kurva hubungan respon kontraksi / relaksasi otot polos trakea marmut terisolasi hasil uji reversibilitas marmin 10 dan 100 μM memiliki profil yang hampir sama dengan kurva kelompok kontrol (histamin, metakolin dan isoproterenol). Hasil analisis varian satu jalan menyimpulkan perubahan nilai pD_2 histamin, metakolin dan isoproterenol sebelum dan setelah perlakuan marmin tidak bermakna secara statistik ($p > 0,05$).

DAFTAR PUSTAKA

- Barnes, P.J., 1989, Airway Receptors, *Postgrad. Med. J.*, **65** : 532- 542
- Gosens, R., Zaagsma, J, Meurs, H. and Halayko, A.J., 2006, Muscarinic Receptor Signaling in the Pathophysiology of Asthma and COPD, *Respir.Res.* **7**(1) : 73-87
- Johnson, M., 2006, Molecular Mechanisms of Beta(2)-adrenergic Receptor Function, Response, and Regulation, *J. Allergy Clin. Immunol*, **117**(1) : 18-24
- Lullmann, H., Mohr, K., Ziegler, A. and Bieger, D., 2000, *Color Atlas of Pharmacology, Second Edition.*, Thieme, New York
- Johnson, M., 2006, Molecular Mechanisms of Beta(2)-adrenergic Receptor Function, Response, and Regulation, *J. Allergy Clin. Immunol*, **117**(1) : 18-24
- Nugroho, A.E., Anas, Y, Arsito N.P, Wibowo, J.T., Riyanto, S and Sukari, M.A. 2011, Effects of Marmin, a Compound Isolated from *Aegle Marmelos* Correa, on Contraction of The Guinea Pig-Isolated Trachea, *Pak. J. Pharm. Sci.*, **24** (4) : 427-433
- Repka-Ramirez, M.S. and Baraniuk, J.N., 2002, *Histamine in Health and Disease*, in Simmons, F.E.R, Histamine and H_1 -antihistamines in Allergic Disease, Second Edition Revised and Expanded, Mercel Dekker Inc. New York
- Sonar, S. and Renz, H., 2009, *Biology of Neurotrophins, Neuropeptides, and Muscarinic Receptors in Asthma*, in Allergy Frontiers : Classification and Pathomechanism, Vol. 2, 469-491, Springer, Tokyo., 2009.
- Takase, H., Yamamoto, K., Hirano, H., Saito, Y. and Yamashita, A., 1994, Pharmacological Profile of Gastric Mucosal Protection by Marmin and Nobiletin from a Traditional Herbal Medicine, *Aurantii fructus immaturus*, *Jpn. J. Pharmacol*, **66**(1) : 139-147
- Taylor-Clark, T., Sodha, R., Warner, B. and Foreman, J., 2005, Histamine Receptors that Influence Blockage of the Normal Human Nasal Airway, *Br. J. Pharmacol*, **144**(6) : 867-874