

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK PROPOLIS TERHADAP KETEBALAN OTOT POLOS BRONKIOLUS PADA MENCIT ASMA

Dian Arsanti Palupi,¹ Nadhifah Luqyana¹
Prodi D3 Farmasi Sekolah Ilmu Tinggi Kesehatan Cendekia Utama Kudus
Email address: arsanti_palupi@yahoo.com

ABSTRAK

Asma bronkial ditandai dengan peradangan saluran nafas kronis, dan timbul secara klinis penyempitan jalan nafas (mengi dan dyspnea) dan batuk. Tujuan penelitian untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak propolis sebagai terapi asma terhadap ketebalan otot polos bronkiolus pada mencit asma. Mencit betina Balb/C 25 ekor yang memenuhi kriteria inklusi dibagi menjadi 5 kelompok. Kontrol normal (K1), kontrol negatif (K2), teofilin (K3), ekstrak propolis (K4), kombinasi teofilin + ekstrak propolis (K5). Pada hari ke-0 mencit disensitisasi dengan 10 µg OVA+ 1 mg Alhidrogel dalam 0,5 mL NaCl steril 0,9% secara intraperitoneal. Pada hari ke-14 20 µg OVA+ 2 mg Alhidrogel dalam 0,5 mL NaCl steril 0,9% secara intraperitoneal. Pada hari ke-21, ke-23, ke-25 mencit diinhalasi OVA1%. Pada hari ke-26 sampai ke-39 kelompok K3 diberi teofilin 0,338 mg/hari, kelompok K4 diberi ekstrak propolis dosis 4 mg/ hari dan kelompok K5 diberi kombinasi teofilin + ekstrak propolis. Pada hari ke-40 mencit diterminasi untuk dianalisis ketebalan otot polos bronkiolus. Perbandingan antara kelompok negatif rata-rata rata-rata $5,35 \pm 0,06 \mu\text{m}$ dapat diturunkan dengan ekstrak propolis (K4) rata-rata $3,73 \pm 0,2 \mu\text{m}$, nilai $p=0,01$ artinya antara kelompok kontrol negatif dan kelompok ekstrak propolis ada perbedaan yang bermakna secara statistik. Ekstrak propolis terbukti dapat menurunkan ketebalan otot polos bronkiolus mencit asma

Kata Kunci: Asma, ketebalan otot polos bronkiolus, ekstrak propolis

ABSTRACT

Bronchial asthma is characterized by chronic airway inflammation, and clinically arises airway narrowing (wheezing and dyspnea) and coughing. The purpose of this study was to determine the effect of propolis extract as asthma therapy on bronchiolus smooth muscle thickness in asthma mice. 25 female Balb / C mice that met the inclusion criteria were divided into 5 groups. Normal control (K1), negative control (K2), theophylline (K3), propolis extract (K4), combination of theophylline + propolis extract (K5). On day 0, mice were sensitized with 10 µg OVA + 1 mg of Alhydrogel in 0.5 mL of sterile 0.9% NaCl intraperitoneally. On the 14th day 20 µg OVA + 2 mg Alhydrogel in 0.5 mL sterile NaCl 0.9% intraperitoneally. On the 21st, 23rd, 25th mice were inhaled OVA1%. On the 26th to 39th day the K3 group was given theophylline 0.338 mg / day, the K4 group was given a propolis extract dose of 4 mg / day and the K5 group was given a theophylline + propolis extract combination. On the 40th day the mice were terminated for bronchiolus smooth muscle thickness analysis. Comparison between the average negative group on average $5.35 \pm 0.06 \mu\text{m}$ can be derived with propolis extract (K4) an average of $3.73 \pm 0.2 \mu\text{m}$, p value = 0.01 meaning between the control group negative and propolis extract group there were statistically significant differences. Propolis extract has been proven to reduce the thickness of bronchiole smooth muscle in asthma mice

Keywords: Asthma, bronchial smooth muscle thickness, propolis extract

LATAR BELAKANG

Prevalensi asma di Indonesia tertinggi terdapat di Sulawesi Tengah (7,8%), di Jawa Tengah prevalensi asma 4,3% sedangkan di DI Yogyakarta 6,9%. Prevalensi asma menurut Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) lebih sering terjadi pada wanita usia ≤ 45 tahun (Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, 2013). Asma merupakan penyakit pernapasan kronis, yang menyerang 1–18% populasi di berbagai negara yang dapat dipicu oleh beberapa faktor yaitu alergen, cuaca, infeksi saluran pernapasan oleh virus dan olah raga. (GINA, 2016). Tujuan dari pengobatan asma adalah untuk memungkinkan pasien asma dapat mencapai fungsi paru normal dan tanpa gejala (Ichinose *et al.*, 2017).

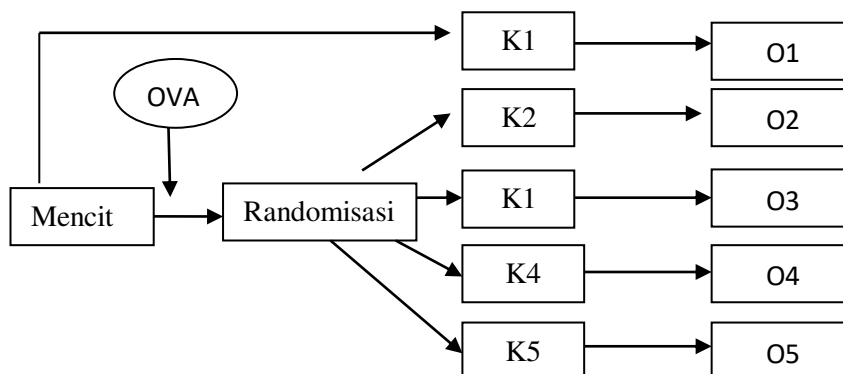
Obstruksi jalan napas pada penderita asma disebabkan oleh produksi lendir yang berlebihan dan pada epitel serta lumen bronkiolus menunjukkan hiperplasia sel mukosa, dengan pengendapan lendir yang berlebihan ke dalam saluran napas. Epitel bronkiolus penderita asma, tampak membran basal lebih tebal yang mengandung beberapa faktor matriks ekstraseluler bila dibandingkan dengan bronkiolus normal., massa otot pada penderita asma meningkat, yang disebabkan oleh kombinasi hipertrofi otot polos dan hiperplasia. (Heart and Columbia, 2011)

Propolis adalah zat mirip resin yang dikumpulkan oleh lebah madu dari tanaman tertentu, dimana yang paling umum adalah tanaman *Eucalyptus citriodora*, *Baccharis dracunculifolia* dan *Araucaria angustifolia* (Szliszka *et al.*, 2013). Propolis merupakan getah dari lebah madu yang terdapat pada pepohonan, atau aliran getah yang dimanfaatkan lebah untuk menutupi celah pada sarangnya (Wagh, 2013). Propolis mengandung flavonoid yang tinggi yang berkhasiat sebagai antioksidan dan antiinflamasi dan memiliki aktivitas antimikroba. Ekstrak propolis telah dievaluasi memiliki efek sebagai imunomodulator dan terapi untuk asma (El-Aidy *et al.*, 2015) Tujuan penelitian ini untuk membuktikan efek propolis sebagai antiasma terhadap penurunan ketebalan otot polos bronkiolus mencit asma.

METODE PENELITIAN

Jenis Penelitian

Jenis penelitian adalah penelitian eksperimen dengan desain *posttest only control group design*. Penelitian telah mendapat *ethical clearance* persetujuan dari Komisi Bioetika Penelitian Kedokteran/ Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang. *Ethical Clearance* No.65/II/2019/Komisi Bioetik.



Keterangan :

R : Randomisasi

K1: Kelompok normal

K2: Kelompok negatif

K3: Kelompok teofilin 0,338 mg/ hari

K4: Kelompok ekstrak propolis 4mg/ hari

K5 : Kelompok kombinasi teofilin + ekstrak propolis

O1 - O5 : Observasi ketebalan Otot Polos Bronkiolus

Populasi pada penelitian ini adalah mencit galur Balb/C jenis kelamin betina berumur 2-3 bulan dengan bobot 25-30 gram. Sampel penelitian sesuai dengan kriteria inklusi, yaitu mencit sehat, bergerak aktif dan tidak mempunyai cacat fisik. Jumlah sampel keseluruhan adalah 25 ekor.

Instrumen penelitian terdiri dari sonde mencit, alat gelas, mikroskop cahaya olympus, timbangan analitik, nebulizer, alat bedah minor (scalpel, pinset, gunting), alat pembuatan preparat histopatologi. Bahan utama yang digunakan antara lain ekstrak propolis (PT. Momen Global International) POM-TR :133673951, Theophylline Anhydrous (Shandong Xinhua Pharmaceutical.China). Ovalbumin/OVA (Worthington Biochemical Corporation, USA)

Identifikasi senyawa kimia pada ekstrak propolis

Identifikasi senyawa kimia dilakukan untuk mengetahui kandungan flavonoid, saponin dan tanin.

- a. Identifikasi flavonoid dilakukan dengan cara menambahkan serbuk Magnesium dan 5 tetes HCl pekat terbentuk warna kuning merah
- b. Identifikasi saponin dilakukan dengan cara menambahkan air 10 mL kemudian dikocok selama 10 detik. Terbentuk busa
- c. Identifikasi tanin dilakukan dengan cara menambahkan pereaksi FeCl_3 1% terbentuk warna hijau violet

Pengujian In-vivo ekstrak propolis pada mencit asma

Pengujian in-vivo pada mencit asma, (Palupi and Hasanah, 2018). Mencit di aklimatisasi selama 7 hari dengan tetap diberi pakan dan minum air secara ad libitum. Selain kelompok normal, pada hari ke-0 mencit disensitisasi secara intra peritoneal (i.p) dengan 10 μg Ovalbumin (OVA) + 1 mg alhidrogel dalam 0,5 mL larutan steril NaCl 0,9%. Pada hari ke-14 diberi 20 μg Ovalbumin (OVA) + 2 mg alhidrogel dalam 0,5 mL larutan steril NaCl 0,9%. Hari ke-21, ke-23, ke-25, mencit diinhalasi dengan OVA 1 mg/mL dalam larutan steril NaCl 0,9% dengan menggunakan alat nebulizer. Hari ke-26 sampai hari ke-39 Kelompok K3 diberi teofilin 1 kali sehari dengan dosis 0,338 mg/hari, kelompok K4 diberi ekstrak propolis 1 kali sehari dengan dosis 4 mg/hari, kelompok K5 diberi kombinasi teofilin dan ekstrak propolis Hari ke-40 dilakukan dislokasi leher pada mencit yang sebelumnya sudah dianestesi dengan injeksi ketamin dosis 0,1 mg/kgBB secara intraperitoneal, kemudian diambil organ paru-paru nya, direndam dalam PBS Formalin 10%, kemudian dibuat preparat dan dilakukan uji histopatologi untuk mengetahui ketebalan otot polos bronkiolus.

Analisis data statistik dilakukan dengan *one way ANOVA* kemudian dianalisis post hoc test untuk mengetahui beda antar 2 kelompok perlakuan. Data disajikan dengan nilai rata-rata $\pm$ SD. Signifikansi didefinisikan pada tingkat $p < 0,05$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Analisis Senyawa Kimia Ekstrak Propolis

Tabel 1. Hasil Analisis Senyawa Kimia Ekstrak propolis

Identifikasi	Hasil	Ekstrak propolis
Flavonoid	Warna kuning merah	+
Saponin	Terbentuk busa	+
Tanin	Warna hijau violet	+

Ekstrak propolis mengandung senyawa aktif flavonoid, saponin dan tannin. Propolis mengandung resin (50%), lilin (30%), penting dan minyak aromatik (10%), bee pollen (5%), dan zat lainnya (5%) (Anjum et al., 2019). Kandungan kimia propolis lebih dari 300 senyawa termasuk polifenol, aldehida fenolat, kuarsa sequiterpene, coumarin, asam amino, steroid, dan senyawa anorganik. Polifenol merupakan salah satu sumber utama pada propolis yang mengandung flavonoid, asam fenolik dan ester. (De Castro et al., 2013)

Hasil Analisis Normalitas Data Ketebalan Otot Polos Bronkiolus

Tabel 2. Hasil analisis normalitas Shapiro Wilk Data Ketebalan Otot Polos

Variabel	Kelompok				
	Normal	Negatif	Teofilin	Ekstrak Propolis	Kombinasi Teofilin+ Ekstrak propolis
Ketebalan otot polos bronkiolus	0,694	0,915	1,000	0,463	0,463

Tabel 2 menunjukkan bahwa ketebalan otot polos bronkiolus pada semua kelompok nilai $p > 0,05$ artinya data berdistribusi normal.

Hasil Analisis Homogenitas Data Ketebalan Otot Polos Bronkiolus

Tabel 3. Hasil Analisis Homogenitas Ketebalan Otot Polos Bronkiolus

Levene statistik	df1	df2	Sig.
1,754	4	10	0,215

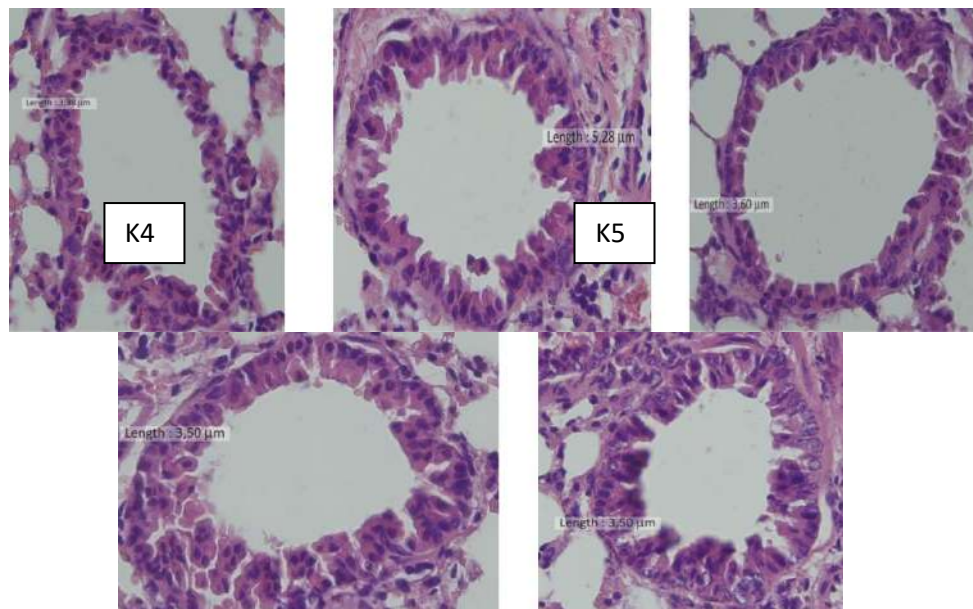
Berdasarkan tabel 3 uji homogenitas menunjukkan bahwa ketebalan otot polos bronkiolus nilai $p > 0,05$ artinya data homogen

Hasil analisis statistik rerata, SD, nilai F dan nilai p data ketebalan otot polos bronkiolus

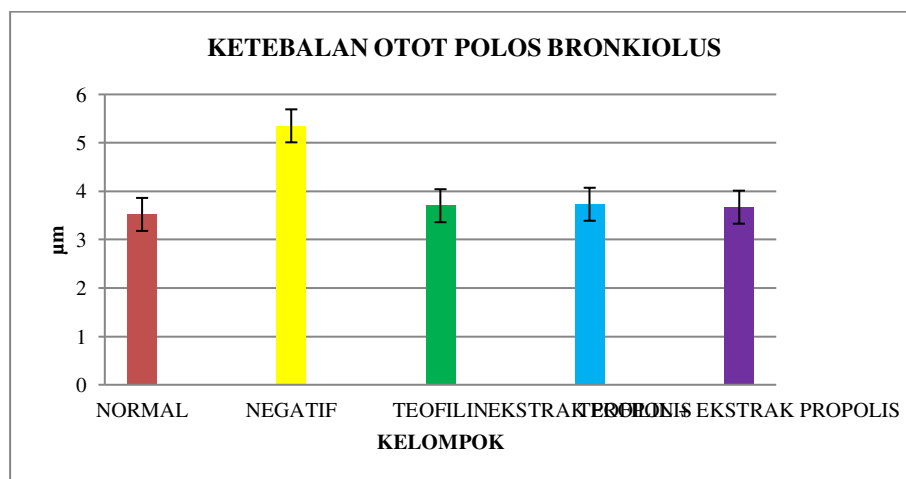
Tabel 4. Rerata, SD, nilai F dan nilai p ketebalan otot polos bronkiolus

Variabel	Kelompok				
	Normal	Negatif	Teofilin	Ekstrak Propolis	Kombinasi teofilin + Ekstrak propolis
Rerata	3,52	5,35	3,70	3,73	3,66
SD	0,13	0,06	0,1	0,21	0,21
Nilai F			74,372		
Nilai p			0,001		

Tabel 4 menunjukkan nilai F 74,372 dan nilai $p= 0,001 (<0,05)$ artinya ada perbedaan yang bermakna ketebalan otot polos bronkiolus pada masing masing kelompok penelitian. Kelompok negatif mempunyai nilai rerata paling tinggi dibandingkan dengan kelompok normal, kelompok teofilin, kelompok ekstrak propolis dan kelompok kombinasi teofilin dan ekstrak propolis.



Gambar 2. Perbandingan hasil pemeriksaan ketebalan otot polos bronkiolus pada (K1) kelompok normal, (K2) kelompok negatif, (K3) kelompok teofilin, (K4) kelompok Ekstrak propolis. (K5), kelompok kombinasi teofilin dan ekstrak propolis dengan pewarnaan HE (Hematoxylin Eosin), perbesaran 400x



Gambar 3. Grafik Rerata Ketebalan Otot Polos Bronkiolus Mencit (µm) pada semua kelompok perlakuan

Hasil pengamatan histopatologi, yang paling tinggi ada pada kelompok negatif (K2) rata-rata $5,35 \pm 0,06 \mu\text{m}$. Perbandingan antara kelompok negatif (K2) rata-rata $5,35 \pm 0,06 \mu\text{m}$ dengan kelompok teofilin (K3) rata-rata $3,70 \pm 0,10 \mu\text{m}$ nilai $p=0,001$ artinya antara kelompok negatif dan kelompok teofilin ada

perbedaan yang bermakna. Perbandingan antara kelompok negatif (K2) rata-rata $5,35 \pm 0,06 \mu\text{m}$ dengan kelompok ekstrak propolis (K4) rata-rata $3,73 \pm 0,21 \mu\text{m}$ nilai $p = 0,001$ artinya antara kelompok negatif dan kelompok ekstrak propolis ada perbedaan yang bermakna. Perbandingan antara kelompok negatif (K2) rata-rata $5,35 \pm 0,06 \mu\text{m}$ dengan kelompok kombinasi teofilin + ekstrak propolis (K5) rata-rata $3,66 \pm 0,21 \mu\text{m}$ nilai $p = 0,001$ artinya antara kelompok negatif dan kelompok kombinasi teofilin dan ekstrak propolis ada perbedaan yang bermakna.

Pada penelitian Sriwahyuni 2010 ovalbumin akan meningkatkan kadar Imunoglobulin E (IgE), sehingga mengakibatkan degranulasi sel mast yang akan melepaskan mediator vasoaktif antarlain histamin. (Sriwahyuni, Risza and Yuni, 2010).

Propolis sebagian besar terdiri dari fenol, terpen, asam amino, vitamin, dan gula (Bankova, Popova and Trusheva, 2014). Suplementasi propolis menunjukkan efek potensial dan positif dapat menurunkan secara signifikan penanda inflamasi yaitu interleukin-6 (IL-6). TNF α dan CRP yang dikaitkan dengan sejumlah besar penyakit tidak menular (Zhao et al., 2016). Propolis mempunyai efek antiinflamasi yang secara langsung dapat mempengaruhi penurunan sitokin pro inflamasi (Al-Waili et al., 2012)

Pemberian ekstrak propolis pada mencit asma yang diinduksi conalbumin menunjukkan penurunan skor inflamasi secara signifikan dan dapat memperbaiki asma, hal tersebut dikarenakan ekstrak propolis mengandung flavonoid dan fenolik yang mempunyai aktivitas antioksidan (El-Aidy et al., 2015). Perbandingan antara kelompok teofilin (K3) ketebalan otot polos bronkiolus rata-rata $3,70 \pm 0,10 \mu\text{m}$ dengan kelompok ekstrak propolis (K4) dengan ketebalan otot polos bronkiolus rata-rata $3,73 \pm 0,21 \mu\text{m}$ nilai $p = 0,795$, artinya antara kelompok teofilin dan kelompok ekstrak propolis tidak ada perbedaan yang bermakna. Perbandingan antara kelompok teofilin (K3) diperoleh hasil ketebalan otot polos bronkiolus rata-rata $3,70 \pm 0,10 \mu\text{m}$ dengan kelompok kombinasi teofilin dan ekstrak propolis (K5) dengan ketebalan otot polos bronkiolus rata-rata $3,66 \pm 0,21 \mu\text{m}$ nilai $p = 0,795$, artinya antara kelompok teofilin dan kelompok kombinasi teofilin dan ekstrak propolis tidak ada perbedaan yang bermakna.

Teoflin merupakan obat golongan methylxanthine penghambat reseptor adenosine (reseptor A1 dan A2) poten, yang dapat melebarkan saluran pernapasan dan merelaksasi otot-otot pada saluran pernapasan sehingga bernapas menjadi lancar (Momeni and Mohammadi, 2009). Injeksi aminofilin dapat menurunkan ketebalan otot polos bronkiolus pada mencit asma (Palupi, 2017). Hipertrofi otot polos, dan dinding saluran napas yang menebal diduga berkaitan dengan airway hyperresponsiveness (AHR) (Halwani, Al-Muhsen and Hamid, 2010).

Pemberian teofilin dapat merelaksasi otot polos saluran nafas oleh penghambatan aktivitas fosfodiesterase (PDE), namun demikian dibutuhkan konsentrasi yang tinggi untuk relaksasi maksimal. (Barnes, 2010). Aktivitas biologis propolis dikarenakan tingginya kadar asam fenolik dan flavonoid yang bertanggung jawab dalam mengontrol respon peradangan (MacHado et al., 2012)

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Ekstrak propolis dapat menurunkan ketebalan otot polos bronkiolus pada mencit asma.

Saran

Diperlukan penelitian dengan variasi dosis ekstrak propolis dan penelitian lanjutan dengan memeriksa diameter epitel bronkiolus, dan jumlah eosinofil mencit asma.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih kami haturkan kepada program studi Farmasi STIKES Cendekia Utama Kudus yang telah memfasilitasi penelitian ini

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Waili, N. et al. (2012) 'Synergistic effects of honey and propolis toward drug multi-resistant *Staphylococcus Aureus*, *Escherichia coli* and *Candida Albicans* isolates in single and polymicrobial cultures', *International Journal of Medical Sciences*, 9(9), pp. 793–800.
- Anjum, S. I. et al. (2019) 'Composition and functional properties of propolis (bee glue): A review', *Saudi Journal of Biological Sciences*. King Saud University, 26(7), pp. 1695–1703.
- Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan (2013) 'Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) 2013', *Laporan Nasional 2013*, pp. 1–384. doi: 1 Desember 2013.
- Bankova, V., Popova, M. and Trusheva, B. (2014) 'Propolis volatile compounds: Chemical diversity and biological activity: A review', *Chemistry Central Journal*, 8(1), pp. 1–8.
- Barnes, P. J. (2010) 'Pharmaceuticals 2010, 3, 725-747', pp. 725–747.
- De Castro, P. A. et al. (2013) Identification of the cell targets important for propolis-induced cell death in *Candida albicans*, *Fungal Genetics and Biology*. Elsevier Inc.
- El-Aidy, W. K. et al. (2015) 'Evaluation of propolis, honey, and royal jelly in amelioration of peripheral blood leukocytes and lung inflammation in mouse conalbumin-induced asthma model', *Saudi Journal of Biological Sciences*. King Saud University, 22(6), pp. 780–788.
- GINA, G. I. for A. (2016) 'Global Strategy for Asthma Management and Prevention', Global Initiative for Asthma, p. update.
- Halwani, R., Al-Muhsen, S. and Hamid, Q. (2010) 'Airway remodeling in asthma', *Current Opinion in Pharmacology*. Elsevier Ltd, 10(3), pp. 236–245.
- Heart, P. and Columbia, B. (2011) 'Clinical update on the use of biomarkers of airway inflammation in the management of asthma', pp. 77–86.
- Ichinose, M. et al. (2017) 'Japanese guidelines for adult asthma 2017', *Allergology International*. Elsevier B.V, 66(2), pp. 163–189.
- MacHado, J. L. et al. (2012) 'Brazilian green propolis: Anti-inflammatory property by an immunomodulatory activity', *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2012.

- Momeni, A. and Mohammadi, M. H. (2009) 'Respiratory delivery of theophylline by size-targeted starch microspheres for treatment of asthma', *Journal of Microencapsulation*, 26(8), pp. 701–710.
- Palupi, D. A. (2017) 'Gambaran Histopatologi Otot Polos Bronkus Mencit Asma Yang Diintervensi Aminofilin', *Prosiding HEFA*, 53(9), pp. 1689–1699.
- Palupi, D. A. and Hasanah, F. N. (2018) 'Pengaruh Pemberian Suplementasi Minyak Zaitun Terhadap Penurunan Ketebalan Epitel Bronkus Pada Mencit Asma Yang Diinduksi Ovalbumin', *Cendekia Journal of Pharmacy*, 2(2), pp. 109–115.
- Sriwahyuni, E., Risza, Q. and Yuni, A. . (2010) 'Black Seed (*Nigella sativa*) Extract Prevent The Thickening of Bronchus and Increase The Circumference Of Bronchial Lumen in Asthma Model Mice', *Jurnal kedokteran Brawijaya*, 26(1), pp. 37–42.
- Szliszka, E. et al. (2013) 'Ethanol extract of polish propolis: Chemical composition and TRAIL-R2 death receptor targeting apoptotic activity against prostate cancer cells', *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2013.
- Wagh (2013) 'Propolis: A wonder bees product and its pharmacological potentials', *Advances in Pharmacological Sciences*, 2013.
- Zhao, L. et al. (2016) 'Brazilian green propolis improves antioxidant function in patients with type 2 diabetes mellitus', *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 13(5)