

EFEK ANTIHISTAMIN FRAKSI ETIL ASETAT DAUN KOPASANDA (*Chromolaena odorata* L.) PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) YANG DI INDUKSI PERASAN UDANG
*Antihistamin Effect Of The Ethyl Acetate Fraction Of Kopasanda Leaf (*Chromolaena odorata* L.) On White Rats (*Rattus norvegicus*) Induced Shrimp Fried.*

Suprpto Prayitno*, Farid Fani Temarwut, Lilis Febrianti
Prodi Farmasi, Fakultas MIPA, Universitas Pancasakti

*E-mail korespondensi: suprptopravitno@gmail.com

DOI: <https://doi.org/10.32382/mf.v19i1.3127>

ABSTRACT

*Kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) is a plant that comes from the Asteraceae family and has been used ethnopharmacological by the community as a medicine derived from nature and contains alkaloids, saponins, flavonoids, tannins, quinones, steroids, coumarins, and phenolics. This study aims to determine the antihistamine effect of the ethyl acetate fraction of Kopasanda leaves (*Chromolaena odorata* L.) on white rats (*Rattus norvegicus*) which were previously acclimated for a week and given shrimp juice. The design in this study used a laboratory experiment where 15 white rats were separated into 5 groups, each group consisting of 3 rats. The first group was given Loratadine suspension as a control (+), the second group was sodium carboxymethyl cellulose suspension as a control (-), the third, fourth and fifth groups as the treatment group were given the ethyl acetate fraction suspension of Kopasanda leaves (*Chromolaena odorata* L.) with a dose of 50 each, 100 and 200 mg/Kg BW all treatments were given orally. The results showed that the ethyl acetate fraction of Kopasanda leaves (*Chromolaena odorata* L.) at doses of 50 mg/Kg BW, 100 mg/Kg BW, and 200 mg/Kg BW had no efficacy as an antihistamine in white rats (*Rattus norvegicus*) that were given shrimp juice and it can be seen based on the decrease in Ig E levels at the pretest and posttest which was not statistically significant on the T-test, there was no significant difference ($P < 0.05$).*

Keywords: Antihistaminic; Ethyl Acetate Fraction; Kopasanda Leaves; White Rats.

ABSTRAK

Kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) merupakan tanaman yang berasal dari keluarga *Asteraceae* dan telah digunakan secara etnofarmakologi oleh masyarakat sebagai obat yang berasal dari alam dan mengandung senyawa alkaloid, saponin, flavonoid, tannin, kuinon, steroid, kumarin, dan fenolik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui Efek antihistamin fraksi etil asetat daun Kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang sebelumnya diaklimatisasi selama seminggu dan diberikan perasan udang. Desain dalam penelitian ini menggunakan eksperimen laboratorium dimana 15 ekor tikus putih yang dipisahkan menjadi 5 kelompok, setiap kelompok terdiri dari 3 ekor tikus. Kelompok pertama diberikan suspensi Loratadine sebagai kontrol (+), Kelompok kedua suspensi Natrium karboksimetil selulosa sebagai kontrol (-), Kelompok ketiga, keempat dan kelima sebagai kelompok perlakuan diberikan suspensi fraksi etil asetat daun Kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) dengan dosis masing-masing 50, 100 dan 200 mg/Kg BB semua perlakuan diberikan melalui oral. Hasil penelitian menunjukkan bahwa Fraksi etil asetat daun Kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) dengan dosis 50 mg/Kg BB, 100 mg/Kg BB dan 200 mg/Kg BB tidak memiliki khasiat sebagai antihistamin pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang berikan perasan udang dan dapat dilihat berdasarkan penurunan kadar IgE pada pretest dan posttest yang tidak signifikan secara statistik pada uji T-test tidak ada perbedaan bermakna ($P < 0,05$).

Kata kunci : Antihistamin; Daun Kopasanda; Fraksi Etil Asetat; Tikus Putih.

PENDAHULUAN

Alergi adalah reaksi berlebihan dari sistem kekebalan terhadap antigen tertentu, kemudian disebut alergen, dan dimediasi oleh imunoglobulin E (IgE) (Ningrum *et al.*, 2016). Hipersensitivitas atau reaksi alergi adalah reaktivitas spesifik dari sensitivitas inang terhadap suatu alergen, berdasarkan proses

imunologi yang terjadi pada kontak kedua atau selanjutnya (Kawuri *et al.*, 2019). Reaksi hipersensitivitas dibagi menjadi 4 klasifikasi yaitu reaksi hipersensitivitas tipe 1, 2, 3 dan tipe 4. (Afifa, 2016)

Reaksi tipe 1 berkembang dalam beberapa tahap sebelum manifestasi klinis. Fase sensitisasi, fase aktivasi, dan tahap efektor

merupakan tiga tahap dari reaksi ini. Reaksi tipe I dimulai pada fase sensitisasi. Pada tahap ini, sistem imun inang akan tersensitisasi untuk menghasilkan IgE sebagai respons terhadap alergen yang masuk seperti polen, tungau, atau alergen lainnya. IgE, sel mast, dan basofil semuanya akan berinteraksi. Jika pejamu disensitisasi ulang terhadap antigen atau alergen spesifik setelah fase sensitisasi, akan terjadi fase aktivasi di mana alergen spesifik mengaktifkan sel mast dan basofil. Histamin, leukotrien, dan prostaglandin adalah beberapa mediator yang dilepaskan oleh sel mast dan basofil pada fase efektor. (Afifa, 2016)

Pengobatan alergi biasanya menggunakan antihistamin seperti diphenhydramine, chlorpheniramine, Loratadine, dan cetirizine yang dapat menimbulkan efek samping jika digunakan dalam jangka panjang. Retensi urine akut, pustulosis eksantematosa umum akut, penurunan kognitif, dan gangguan sambungan neuromuskuler dapat terjadi dengan cetirizine, chlorpheniramine, diphenhydramine, atau Loratadine (Kawuri *et al.*, 2019). Sehingga harus ada jalan keluar untuk mengatasi masalah tersebut dengan menggunakan senyawa obat yang bersumber dari bahan alam.

Obat tradisional dan pengobatan tradisional digunakan untuk mengatasi masalah kesehatan pada masyarakat Indonesia. Pengobatan tradisional merupakan warisan budaya bangsa yang perlu dilestarikan dan dikembangkan, dengan mempertimbangkan dampak negatif dari pengobatan tradisional yang menggunakan berbagai bahan. Organisasi Kesehatan Dunia juga menyatakan bahwa karena manfaat tersebut, sekitar 80% penduduk dunia bergantung pada pengobatan tradisional, termasuk penggunaan obat herbal. (Fauziah *et al.*, 2021).

Daun Kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) merupakan tanaman dari keluarga *Asteraceae* dan telah dimanfaatkan untuk bahan obat alternatif, tanaman ini mengandung flavonoid, saponin, tanin, kuinon, steroid, dan kumarin, fenolat dan alkaloid (Nurhajanah *dkk.*, 2020). Penelitian yang dilakukan oleh (Andika *et al.*, 2020) juga menunjukkan bahwa sampel daun *Chromolaena* positif mengandung saponin, flavonoid, fenol dan tanin dan negatif untuk alkaloid, terpenoid dan steroid. Sampel bau segar *Chromolaena* positif untuk alkaloid, saponin, flavonoid, fenol dan tanin dan negatif untuk terpenoid dan steroid. Menurut (Tanamal *et al.*, 2017) Senyawa flavonoid memiliki potensi sebagai antioksidan dan memiliki aktivitas anti bakteri, anti inflamasi, anti alergi dan anti trombosis. Flavonoid dapat berperan

sebagai hepatoprotektor, antiinflamasi dan antihistamin.. Sistem kekebalan ini dapat melawan peradangan, alergi, diabetes, dan perkembangan tumor (Subijanto & Diding, 2008).

Burgos *et al.* (2000) di dalam penelitiannya mengatakan bahwa Flavonoid dapat mencegah masuknya Ca^{2+} . Hasilnya, flavonoid pada daun Kopasanda akan mampu menghentikan degranulasi sel mast. Amina vasoaktif seperti histamin, mediator lipid, dan sitokin yang terlibat dalam proses inflamasi selama kejadian alergi menghambat degranulasi sel mast.

Shishehbor F, *et.al* (2010) Melakukan studi tentang quercetin dan reaksi anafilaksis kacang pada tikus yang peka terhadap kacang. menunjukkan bahwa flavonoid quercetin dapat menghambat mekanisme sel mast yang mengarah ke reaksi anafilaksis dan menekan reaksi anafilaksis yang diinduksi protein kacang polong pada tikus dengan dosis 50 mg/kg BB. Pada Artikel Situngkir dan Elysa (2021) melakukan penelitian aktivitas antiinflamasi ekstrak etil asetat daun kopasanda pada tikus jantan. Hasil menunjukkan ekstrak etil asetat daun kopasanda 50 mg, 100 mg, dan 200 mg memiliki aktivitas antiinflamasi bila diberikan pada tikus jantan.

Alergi dan inflamasi sangat erat kaitannya karena pada saat reaksi alergi, sistem imun melepaskan mediator inflamasi seperti histamin, leukotrien, dan mediator lainnya. Histamin adalah amina vasoaktif yang ada dalam sel mast dan butiran sitoplasma basofil. Ia memiliki reseptor di setiap jaringan tubuh. Pada kasus alergi, histamin akan bekerja pada pembuluh darah, otot polos yang mengakibatkan adanya kontraksi pada otot polos dan adanya peningkatan permeabilitas pembuluh darah pada reaksi anafilaksis akut, rinitis alergi, urtikaria, dan bronkospasme (Ningrum *et al.*, 2016).

Berdasarkan uraian di atas, diperlukan upaya untuk mengembangkan obat alternatif sebagai obat alergi. Ekstrak etil asetat daun Kopasanda telah diteliti aktivitas anti inflamasinya pada tikus putih jantan, sehingga saya ingin mengisolasi dan melakukan penelitian untuk mengetahui efek antihistamin dari fraksi etil asetat (FEA) daun Kopasanda (*Chromolaena odorata* L.). FEA daun Kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) yang mengandung senyawa flavonoid berperan sebagai obat anti alergi. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek antihistamin FEA daun Kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diberikan sari udang secara oral.

METODE

banyaknya sampel untuk masing-masing kelompok adalah tiga, pengambilan sampel minimal dalam penelitian. Jadi jika ditotal dalam penelitian ini yang digunakan sekitar 15 sampel. Tikus kontrol dan tikus perlakuan diperlakukan secara identik dan pada waktu yang sama.

Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada awal bulan September sampai akhir Oktober 2022 menggunakan laboratorium Fitokimia, Laboratorium Farmakologi Universitas Pancasakti Makassar dan Laboratorium Penelitian Rumah Sakit Universitas Hasanuddin Makassar.

Sampel

Sampel dalam penelitian ini yaitu menggunakan tikus putih (*Rattus norvegicus*) sehat yang berjenis kelamin jantan dengan bobot badan antara 150 gram - 200 gram berjumlah lima belas (15) ekor dan selanjutnya dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan masing-masing kelompok berjumlah tiga ekor tikus yaitu kelompok kontrol positif (+), kontrol negatif (-) dan 3 kelompok perlakuan.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah timbangan satuan mg, kandang tikus, gelas ukur, Beker gelas, waterbath, batang pengaduk, cawan porselin, *rotary evaporator*, spuit oral, kain flanel, maserator, gunting, jangka sorong, lumping dan alu, corong pisah, Chopper blender daging, elisa reader, Rat Immunoglobulin E BT-LAB Kit, tabung vaculab plain 5 ml, tabung eppendorf, Mikropipet, Tip kuning 10-100 μ L, Handscoon, Reagen reservoir, Incubator, Vortex/Maxi mix, dan Multichannel pipettes.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang dibeli dari pasar Hobi Toddopuli Raya Makassar dengan jenis kelamin jantan berumur 2-3 bulan dengan berat 150-200 gram, Daun Kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) diperoleh dari kabupaten barru, udang putih, aquadest, etil asetat, n-heksan, kertas saring, Loratadine sebagai kontrol positif, Natrium CMC, Stop solution, Wash Solution, Substrate solution A, Substrate Solution B, Eter, Straptavidin-HRP, Wash Buffer 25x, Biotinylated Antibody, Standard Diluent, dan etanol 96%.

Jenis dan Cara Pengumpulan Data Penyiapan Sampel

Sampel daun Kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) diambil dari Kabupaten Barru kemudian dibersihkan menggunakan air bersih yang mengalir satu arah untuk membersihkan kotoran yang melekat selanjutnya dilakukan pemilahan tujuan dari pemilahan adalah untuk memisahkan bagian tanaman yang tidak digunakan ataupun kemungkinan adanya simplisia lain yang ikut pada saat pengumpulan sampel. Selanjutnya ditimbang kembali untuk mengetahui persentase pengotornya. Selanjutnya sampel jemur dengan cara dibiarkan diruang terbuka terhindar dari sinar matahari langsung atau dikeringkan di tempat yang teduh. Setelah kering, ditimbang kembali untuk mengetahui bobot simplisia. Selanjutnya dilakukan proses ekstraksi dengan metode maserasi.

Ekstraksi

Pembuatan ekstrak metanol daun Kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) mengacu pada jurnal Nofrianto, Rinidar dan Armansyah (2017). Serbuk simplisia daun kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) sebanyak 600 g kemudian dimasukkan ke dalam bejana, tambahkan 1,5 liter etanol 96% dan biarkan pada suhu ruang dalam waktu 3x24 jam dan setiap 12 jam dilakukan pengadukan dan terlindung dari sinar matahari. Setelah 3 hari kemudian ekstrak cair disaring menggunakan kain flanel dan ditampung ke dalam wadah. Perlakuan tersebut diulang hingga 2 kali dengan pelarut yang sama. Ekstrak cair yang telah ditampung kemudian diuapkan dengan menggunakan alat rotary evaporator pada suhu 40° Celsius sampai didapatkan ekstrak pekat, yang kemudian dikurangi pelarutnya dengan cara pemanasan menggunakan penangas air sampai diperoleh massa yang kental.

Fraksinasi

Pembuatan FEA ekstrak etanol daun Kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) mengacu pada artikel [Nofrianto, Rinidar dan Armansyah \(2017\)](#). Dimasukkan ekstrak kental, yang dapat mengalir ke corong terpisah lalu tambahkan air suling. Kemudian campurkan dengan pelarut n-Heksana dengan perbandingan yang sama banyak (1:1), lalu dikocok selama kurang lebih 15 menit dan didiamkan beberapa saat sampai terbentuk 2 lapisan yaitu lapisan n-Heksana dan lapisan air. Lapisan n-Hexane berada di bagian atas karena memiliki bobot jenis yang lebih rendah dari air selanjutnya larutan tersebut dipisahkan dengan membuka katup fungsi pemisah sampai lapisan air habis. Lapisan n-

Hexane dihilangkan dan kemudian dipisahkan sebagai fraksi n-Hexane. Lapisan air kemudian dipartisi lagi dengan pelarut etil asetat dengan perbandingan volume yang sama banyak, dikocok selama kurang lebih 15 menit kemudian didiamkan beberapa saat sampai terbentuk dua lapisan, lapisan etil asetat (atas) dan lapisan air (bawah). Lapisan etil asetat dan air dipisahkan dengan membuka secara perlahan stopcock pemisah, perlakuan diulang sebanyak 3 kali hingga diperoleh larutan etil asetat yang bening. Selanjutnya fraksi air dan etil asetat diuapkan dengan menggunakan vakum rotari evaporator pada 50 °C dan 50 rpm hingga diperoleh ekstrak yang pekat. Kemudian ekstrak pekat diuapkan hingga kental namun masih dapat di tuang. Fraksi tersebut kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 40°C.

Pembuatan suspensi fraksi etil asetat daun Kopasanda

Suspensi FEA asetat daun Kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) dipersiapkan dengan mencampurkan FEA dengan larutan koloidal Na CMC 0,5% sebagai pembawa hingga homogen, dibuat dalam konsentrasi 50 mg/kg BB tikus, 100 mg/kg BB tikus dan 200 mg/kg BB tikus. Untuk membuat suspensi fraksi etil asetat daun Kopasanda 50 mg/kg BB dengan cara ditimbang FEA sebanyak 50 mg kemudian digerus dalam lumpang, lalu ditambahkan sedikit demi sedikit larutan Na CMC 0,5% sambil tetap digerus hingga diperoleh massa yang homogen selanjutnya dimasukkan ke dalam wadah dan dicukupkan volumenya hingga 20 ml. Untuk membuat suspensi fraksi etil asetat daun Kopasanda 100 mg/kg BB dengan cara di timbang 100 mg FEA daun Kopasanda kemudian digerus dalam lumpang, lalu ditambahkan sedikit demi sedikit larutan Na CMC 0,5% sambil tetap dilakukan pengadukan hingga terbentuk larutan yang homogen selanjutnya dicukupkan volumenya sampai 20 ml dan untuk membuat suspensi FEA daun Kopasanda 200 mg/kg BB dengan cara di timbang 200 mg FEA daun Kopasanda kemudian digerus dalam lumpang, lalu ditambahkan sedikit demi sedikit larutan Na CMC 0,5% sambil tetap dilakukan pengadukan selanjutnya dicukupkan volumenya hingga 20 ml.

Pembuatan suspensi Na CMC 0,5% b/v

Ditimbang 500 mg bubuk Na.CMC, dimasukkan ke dalam lumpang diaduk sambil ditambahkan 50 ml air hangat hingga terbentuk larutan koloidal. kemudian dicukupkan volumenya hingga 100 ml dengan air suling.

Pembuatan Larutan Alergen perasan udang

Pembuatan larutan alergen perasan udang mengacu pada jurnal Oktaviani, Richa dan Jatmiko (2016). Udang yang digunakan adalah jenis udang Vannamei/udang putih. Udang dipisahkan dari kulit dan dagingnya selanjutnya dicuci bersih dengan air mengalir, ditimbang sebanyak 1000 gram, kemudian haluskan dengan menggunakan blender selanjutnya diperas untuk mendapatkan sarinya. Ditimbang 50 gram perasan udang ditambah air 50 ml didapatkan konsentrasi 100% b/v perasan udang. Kemudian dilembutkan menggunakan emulsifying mixer. Volume pemberian yaitu 2,5 mL/200 g BB tikus putih untuk sensitisasi secara peroral.

Pembuatan suspensi Loratadine

Timbang 10 tablet Loratadine lalu hitung rata-rata berat masing-masing tablet lalu masukkan ke dalam lumpang dan digerus hingga menjadi halus. Berat 10 tablet Loratadine adalah 2090 mg, kemudian dibagi 10, rata-rata berat masing-masing tablet Loratadine adalah 209 mg. Dibuat suspensi Loratadine sebanyak 100 mL dengan cara ditimbang sebanyak 75,24 mg serbuk Loratadine dan dimasukkan ke dalam lumpang, kemudian ditambahkan larutan koloid natrium CMC 0,5% perlahan-lahan sambil diaduk hingga rata, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur dan dicukupkan volumenya dengan menggunakan larutan koloid. Sodium. CMC 0,5% hingga 100 ml.

Pengelompokan hewan coba

Pengelompokan hewan coba mengacu pada Artikel Subijanto dan Diding (2016) dan Nofrianto, Rinidar dan Armansyah (2017). Tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang digunakan sebanyak 15 ekor yang dibagi menjadi 5 kelompok dan tiap kelompok terdiri dari 3 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan:

Kelompok pertama, Kontrol (-) diberikan suspensi Na. CMC 2,5 ml/200 gram BB secara oral, kelompok kedua kontrol positif yang diberikan suspensi Loratadine 0,18 mg/200 g BB tikus/5 ml secara oral, Kelompok ketiga diberikan larutan suspensi fraksi etil asetat daun Kopasanda 50 mg/kg BB tikus secara oral, kelompok ke-empat diberikan larutan suspensi fraksi etil asetat daun Kopasanda 100 mg/kg BB tikus secara oral, dan Kelompok ke-lima diberikan larutan suspensi fraksi etil asetat daun Kopasanda 200 mg/kg BB tikus secara oral.

Pengujian efek Antihistamin Adaptasi hewan uji

Semua hewan uji diadaptasikan selama 7 hari (hari ke-1 sampai hari ke-7) dan diberikan pakan standar berupa pellet dan air minum dengan teratur di Laboratorium Farmakologi Universitas Pancasakti Makassar. Hewan uji dikelompokkan menjadi 5 kelompok, setiap kelompok berisi 3 ekor tikus putih kemudian ditimbang.

Sensitisasi hewan coba

Pada hari ke delapan sampai hari ke empat belas dibuat tikus model alergi, dengan cara dilakukan sensitisasi pada tikus menggunakan perasan udang melalui saluran pencernaan dengan dosis 2,5 ml/200 gram BB pada hari ke- 8,10,12, dan 14 (perlakuan diberikan setiap 48 jam sekali selama seminggu) (Kawuri, dkk 2019) dan (Oktaviani, Richa dan Jatmiko, 2016).

Perlakuan hewan uji

Setelah 30 menit disensitisasi dengan perasan udang pada hari ke-14, kemudian di ambil darahnya melalui sinus orbitalis pada semua kelompok untuk di jadikan sebagai sampel pre. Setelah 24 jam di sensitisasi selama hari ke-14, selanjutnya di hari berikutnya diberikan perlakuan untuk masing-masing kelompok. Kelompok pertama diberikan Natrium CMC 0,5 % sebanyak 2,5 ml/200 g BB secara oral sebagai kontrol negatif, kelompok kedua diberikan suspensi Loratadine (antihistamin generasi II) secara per oral dengan dosis 0,18 mg/200 g BB sebagai kontrol positif, kelompok ketiga, keempat dan kelima diberikan fraksi etil asetat daun Kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) masing-masing 50 mg/kg BB, 100 mg/kg BB dan 200 mg/kg BB kemudian dilakukan pengambilan darah.

Penentuan kadar Ig E

Setelah 30 menit perlakuan pada setiap kelompok tikus putih (*Rattus norvegicus*), darah dikumpulkan melalui sinus orbita kemudian disentrifugasi untuk mendapatkan serum. Setelah itu, kadar Immunoglobulin E dianalisis menggunakan ELISA reader sesuai dengan protokol yang direkomendasikan oleh pabrik (Bioassay Technology Laboratory, Shanghai, China). Penelitian dilakukan di Laboratorium Penelitian Rumah Sakit Universitas Hasanuddin. (Kawuri, dkk 2019).

Prosedur Pengujian Rat Immunoglobulin E Elisa KIT (Bioassay Technology Laboratory, Shanghai, China) yaitu: Disiapkan semua reagen, semua reagen yang akan dipakai disimpan dalam temperatur kamar. Ditentukan banyaknya strip yang diperlukan pada pengujian. Dimasukkan strip ke dalam

bingkai untuk diterapkan. Ditambahkan 50 µl larutan standar ke sumur standar melalui dinding untuk menghindari hilangnya antibodi terbiotinilasi di dalam sumur. Ditambahkan 40 µl sampel serum ke sampel sumur, lalu tambahkan 10 µl antibodi anti-IgE ke sampel sumur, lalu tambahkan 50 µl streptavidin-HRP ke sampel sumur dan sumur standar (bukan sumur kontrol kosong) campur hingga rata. Tutupi piring dengan segel. Inkubasi pada 37 menit selama 60 menit, lepaskan segelnya, lalu cuci pelat sumur 5 kali. Inkubasi sumur dengan 300 µl wash buffer selama 30 sampai 1 menit untuk tiap pencucian. Blot sumur pada handuk, kain, atau bahan penyerap lainnya. Tambahkan 50 µl larutan substrat ke masing-masing sumur, lalu tambahkan 50 µl larutan substrat B ke masing-masing sumur. Kemudian tutup piring dengan segel dan inkubasi dalam gelap pada suhu 37°C selama 10 menit (sumur berwarna biru). Tambahkan 50 µl stop solution disetiap well, selanjutnya akan terjadi perubahan warna dari biru menjadi kuning. Tentukan kerapatan optik (nilai OD) dari tiap-tiap sumur dengan segera menggunakan pembaca pelat mikro/Elisa Reader pada 450 nm selama 10 menit setelah menambahkan larutan penghenti.

Pengolahan dan analisis data

Data yang telah dikumpulkan setelah dilakukan penelitian merupakan data sekunder yang berasal dari pengamatan hewan uji baik pada kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan. Data yang dikumpulkan merupakan data kuantitatif dan data kualitatif. Data kuantitatif yang diperoleh dibuat dalam bentuk grafik dan dianalisis secara statistik menggunakan program Statistical and Productivity Service (SPSS) 20.0 for Windows.

HASIL

Dari hasil penelitian yang diperoleh yaitu efek antihistamin FEA daun Kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) pada tikus putih yang diberikan perasan udang secara per oral diperoleh data sebagai berikut .

Tabel 2. Berat ekstrak etanol dan rendemen daun Kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) yang diperoleh dari ekstraksi

Berat Sampel (g)	Berat Ekstrak (g)	Rendamen (%)
600	22,24	3,7%

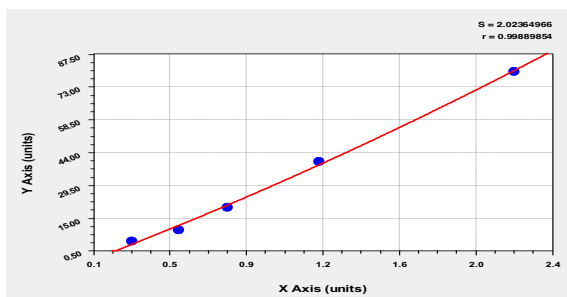
Tabel 3. Hasil fraksinasi ekstrak kental daun Kopasanda (*Chromolaena odorata* L.)

Pelarut	Bobot Ekstrak	Bobot	Rendamen
---------	---------------	-------	----------

	(g)	Fraksi (g)	(%)
Etil Asetat	22,24	12,6	56,65
n-Heksan	22,24	2,63	11,82

Tabel 4. Hasil Serapan pengenceran standar

WELL	Sampel	Konsentrasi (µg/mL)	Serapan
A01	Standar 5	80,3	2,1710
B01	Standar 4	38,6	1,2300
C01	Standar 3	20,7	0,7844
D01	Standar 2	11,9	0,5521
E01	Standar 1	3,5	0,3251
F01	Standar 0	0	0



Gambar 1. Kurva logistik 3 parameter untuk mendeskripsikan korelasi antara konsentrasi dan absorbansi pada pengenceran standar

Dari grafik kuantitatif terhadap hasil absorbansi standar maka diperoleh persamaan sebagai berikut:

$$y = a + bx + cx^2$$

parameter a -7,96
parameter b 34,30
parameter c 2,92

$$y = -7,96 + 34,30(x) + 2,92(x)^2$$

Keterangan : y = Konsentrasi
x = Absorbansi

Apabila dihitung berdasarkan rumus, nilai absorbansi dari sampel, maka didapatkan hasil seperti pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil interpolasi untuk penentuan nilai konsentrasi dari sampel menggunakan persamaan yang diperoleh dari nilai absorbansi standar terhadap konsentrasinya

WELL	Sampel	Serapan	Konsentrasi (µg/mL)
A02	KP 1 (pretest)	0,7404	19,03
B02	KP 2 (pretest)	0,7557	19,63
C02	KP 3 (pretest)	0,6425	15,28
D02	KN 1 (pretest)	0,6977	17,39
E02	KN 2 (pretest)	0,7645	19,97
F02	KN 3 (pretest)	0,7063	17,72
A03	P1.1 (pretest)	0,6613	16,00
B03	P1.2 (pretest)	0,7721	20,26
C03	P1.3 (pretest)	0,6551	15,76
D03	P2.1 (pretest)	0,5939	13,44
E03	P2.2 (pretest)	0,6975	17,38
F03	P2.3 (pretest)	0,6633	16,07
A04	P3.1 (pretest)	0,7379	18,94
B04	P3.2 (pretest)	0,7137	18,01
C04	P3.3 (pretest)	0,6308	14,84

	(<i>pretest</i>)		
D04	KP 1 (<i>Posttest</i>)	0,5092	10,26
E04	KP 2 (<i>Posttest</i>)	0,3975	6,14
F04	KP 3 (<i>Posttest</i>)	0,5801	12,92
G04	KN 1 (<i>Posttest</i>)	0,5727	12,64
A05	KN 2 (<i>Posttest</i>)	0,6293	14,78
B05	KN 3 (<i>Posttest</i>)	0,6804	16,73
C05	P1.1 (<i>Posttest</i>)	0,6200	14,43
D05	P1.2 (<i>Posttest</i>)	0,5573	12,06

E05	P1.3 (<i>Posttest</i>)	0,6094	14,03
F05	P2.1 (<i>Posttest</i>)	0,4463	7,93
G05	P2.2 (<i>Posttest</i>)	0,6833	16,84
A06	P2.3 (<i>Posttest</i>)	0,4356	7,54
B06	P3.1 (<i>Posttest</i>)	0,6411	15,23
C06	P3.2 (<i>Posttest</i>)	0,6620	16,03
D06	P3.3 (<i>Posttest</i>)	0,6961	17,33

Dari hasil perhitungan konsentrasi sampel maka diperoleh kadar rata-rata imunoglobulin E serum darah tikus putih yang dapat dilihat pada di bawah ini

Tabel 6. Kadar Imunoglobulin E serum darah tikus putih ($\mu\text{g/mL}$).

Kelompok	Rata-Rata \pm SD		
	Replikasi	<i>Pretest</i>	<i>Posttest</i>
Kontrol (+) Loratadine 0,18 mg/200 g BB	1	19,03	10,26
	2	19,63	6,14
	3	15,28	12,92
Rata-rata \pm SD		17,98 \pm 2,35	9,77 \pm 3,41
Kontrol (-) Na CMC 0,5 %	1	17,39	12,64
	2	19,97	14,78
	3	17,72	16,73
Rata-rata \pm SD		18,36 \pm 1,40	14,71 \pm 2,04
FEA 50 mg/Kg BB Tikus	1	16,00	14,43
	2	20,26	12,06
	3	15,76	14,03
Rata-rata \pm SD		17,34 \pm 2,53	13,50 \pm 1,26
FEA 100 mg/Kg BB Tikus	1	13,44	7,93
	2	17,38	16,84
	3	16,07	7,54
Rata-rata \pm SD		15,63 \pm 2,00	10,77 \pm 5,26
FEA 200 mg/Kg BB Tikus	1	18,94	15,23
	2	18,01	16,03
	3	14,84	17,33
Rata-rata \pm SD		17,26 \pm 2,14	16,19 \pm 1,05

Keterangan: SD = Standar Deviasi

Tabel 7. Hasil uji homogenitas kadar Imunoglobulin E serum dengan menggunakan Levene's Test

Kelompok	Sig.	Keterangan
Kontrol (+) Loratadine 0,18 mg/200 g BB	0,599	Berbeda bermakna
Kontrol (-) Na.CMC 0,5%	0,688	Berbeda bermakna
FEA 50 mg/Kg BB	0,154	Berbeda bermakna
FEA 100 mg/Kg BB	0,87	Berbeda bermakna
FEA 200 mg/Kg BB	0,205	Berbeda bermakna

Tabel 8. Hasil uji T-test kadar rata-rata Imunoglobulin E

Kelompok	Sig. (2-tailed)	Keterangan
Kontrol (+) Loratadine 0,18 mg/200 g BB	0,032	Berbeda bermakna
Kontrol (-) Na.CMC 0,5%	0,072	Berbeda tidak bermakna
FEA 50 mg/Kg BB	0,102	Berbeda tidak bermakna
FEA 100 mg/Kg BB	0,246	Berbeda tidak bermakna
FEA 200 mg/Kg BB	0,498	Berbeda tidak bermakna

PEMBAHASAN

Penelitian yang telah dilakukan untuk mengetahui efek antihistamin FEA daun Kopasanda terhadap tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang sebelumnya telah sebelumnya telah diberikan sari udang. Tikus Wistar jantan digunakan dalam penelitian ini untuk meminimalkan variabilitas biologis. Ekstraksi daun Kopasanda menggunakan pelarut etanol 96% menghasilkan ekstrak 22,24 gram dan rendemen 3,7%.

Kemudian setelah dilakukan ekstraksi 22,24 g daun Kopasanda, menggunakan n-heksana, etil asetat dan 120 mL air, dilanjutkan fraksinasi, fraksi yang telah dikumpulkan selanjutnya diuapkan. Fraksinasi dilakukan dengan maksud untuk mendapatkan komponen kimia dari ekstrak yang dihasilkan berdasarkan kelarutannya. Prinsipnya adalah pelarut yang bersifat polar akan melarutkan senyawa yang bersifat polar begitu juga sebaliknya senyawa yang bersifat non polar akan melarutkan senyawa yang bersifat non polar juga. (Uthia *et al.*, 2017).

Kemudian FEA daun Kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) yang dihasilkan disiapkan sebagai kelompok perlakuan dengan konsentrasi 50, 100 dan 200 mg/Kg bb. Dosis ini mengacu pada penelitian Situngkir dan Elisa

(2021) yang melakukan penelitian mengenai kemampuan ekstrak etil asetat daun Kopasanda dalam menurunkan peradangan terhadap tikus putih jantan. Hasil menunjukkan ekstrak etil asetat mempunyai khasiat sebagai anti peradangan terhadap mencit dengan konsentrasi 50, 100 dan 200 mg/kg bb. Alergi dan inflamasi sangat erat kaitannya karena pada saat reaksi alergi, sistem imun melepaskan mediator inflamasi seperti histamin, leukotrien, dan mediator lainnya. Histamin adalah amina vasoaktif yang terdapat di dalam butiran sitoplasma di sel basofil dan sel mast juga mempunyai reseptor di beberapa organ tubuh. Tanda-tanda alergi khususnya histamine terjadi pada otot polos dan pembuluh darah. Akibat dari histamin menimbulkan pelebaran pada pembuluh darah (vasodilatasi), peningkatan aliran darah, dan kontraksi otot yang bisa menimbulkan manifestasi klinis pada rinitis alergi, bronkospasme, dan urtikaria pada kasus anafilaksis akut (Ningrum, Suprihati, & Januar, 2016).

Kontrol (+) yang dipakai dalam penelitian ini adalah Loratadine 0,18 mg/200 gW yang disuspensi dengan CMC Na 0,5%. Hal ini dilakukan agar loratadin terdispersi secara rata ke dalam larutan sehingga tidak menimbulkan perbedaan konsentrasi pada saat

pemberian secara per oral. Loratadine termasuk golongan antihistamin generasi kedua antagonis reseptor H₁ yang digunakan sebagai pembanding mengingat Loratadine memiliki efek anti alergi, sedangkan kontrol negatif (-) menggunakan natrium CMC 0,5%. CMC Na dipilih sebagian karena toksisitasnya yang relatif rendah terhadap organisme hidup, bioavailabilitas yang baik, dan kemudahan ekstraksi. Kelompok kontrol berfungsi untuk membandingkan dan menentukan apakah suspensi berpengaruh terhadap hewan coba (Uthia *et al.*, 2017).

Berdasarkan hasil yang diperoleh dengan menggunakan Elisa Reader dan analisis statistik dengan menggunakan software SPSS 25.0 terlihat bahwa imunoglobulin E (Tabel 6) memiliki kadar imunoglobulin lebih tinggi pada kelompok terbaik. E daripada kelompok posttest. Hal ini menunjukkan bahwa sensitivitas sari udang mampu meningkatkan kadar Immunoglobulin E pada mencit putih. Reaksi alergi disebabkan oleh paparan berulang terhadap alergen atau antigen pada seseorang, yang meningkatkan respons terhadap imun. Saat seseorang terpapar alergen, tubuh akan memproduksi antibodi IgE yang berikatan dengan senyawa penyebab alergi tersebut. Antibodi akan berikatan dengan sel darah atau yang dikenal dengan sel mast. Sel mast terdapat di kerongkongan, tenggorokan, pencernaan, dan area lainnya. Sel mast menghasilkan berbagai senyawa kimia, salah satunya adalah histamin yang menyebabkan banyak reaksi alergi. Jus partikel adalah alergen yang biasa digunakan untuk menginduksi reaksi alergi pada hewan uji. Oktaviani *et al.*, 2016 membenarkan dalam penelitiannya juga menggunakan jus yang dapat diinduksi dari tikus Wistar jantan untuk mengamati alergi. Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, persentase selisih rata-rata skor terbaik lebih tinggi dari posttest.

Uji homogenitas kadar imunoglobulin E kemudian dilakukan untuk memeriksa apakah kadarnya sama pada semua kelompok. Uji tersebut dapat dilakukan menggunakan metode Levene (Tabel 7). Apabila data mempunyai nilai signifikansi $P > 0,05$ maka dikatakan univariat. Dari hasil yang diperoleh menunjukkan data signifikan $P > 0,05$ (data homogen).

Untuk mengetahui perbedaannya dilakukan uji statistik dilanjutkan dengan T-test (Tabel) untuk melihat perbedaan rerata kadar imunoglobulin E antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Jika nilai data signifikan $P < 0,05$ maka dikatakan signifikan. Uji t memperlihatkan bahwa ada perbedaan signifikan terhadap kelompok kontrol positif

jika dibandingkan dengan kelompok dengan nilai $P = 0,032$ atau $P < 0,05$ yaitu lebih tinggi dari 0,05 dibandingkan dengan kelompok lain yang berarti tidak ada perbedaan yang signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa Loratadine kontrol positif mungkin memiliki efek antihistamin pada tikus putih, karena Loratadine adalah obat antihistamin trisiklik kerja lama dengan efek yang berlawanan secara selektif terhadap reseptor H₁ perifer tanpa sedasi sentral. Loratadine merupakan antihistamin H₁ generasi kedua yang mengikat, tetapi tidak mengaktifkan, reseptor histamin, sehingga menghalangi aksi agonis histamin atau histamin (BPOM, 2017).

Suspensi FEA daun Kopasanda pada kelompok 50, 100 dan 200 mg/Kg BB mempunyai nilai signifikan pada uji-T (Tabel 8) yaitu 0,102, 0,246 dan 0,496 pada kelompok kontrol negatif mempunyai nilai signifikansi pada uji T, yaitu 0,072, yang berarti tidak berbeda nyata antara kelompok yang diberikan ($P < 0,05$). kelompok kontrol negatif yang mengandung FEA dan suspensi CMC Na. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa flavonoid quercetin dalam FEA daun Kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) tidak berperan sebagai antihistamin pada tikus putih.

KESIMPULAN

Setelah dilakukan penelitian maka dapat disimpulkan FEA daun Kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) pada dosis 50, 100 dan 200 mg/kg bb. Tidak memiliki khasiat sebagai antihistamin terlihat dari penurunan kadar Ig E yang diinduksi dengan perasan udang tidak bermakna secara statistik pada uji T, tidak berbeda nyata ($P < 0,05$).

SARAN

Diharapkan agar peneliti selanjutnya dapat menggunakan metode ELISA untuk melihat efek antihistamin pada tikus putih dengan menggunakan sampel yang berbeda.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan rasa terima kasih kepada Kemenristekdikti yang sudah memberikan kesempatan kepada kami untuk ikut dalam program hibah penelitian dosen pemula tahun 2022.

DAFTAR PUSTAKA

Afifa, K. 2016. *Hubungan Manifestasi Alergi dengan Riwayat Pemberian Asi Eksklusif pada Balita di Poli Anak RSUD Dr. R. Sosodoro Djatikoesoemo Bojonegoro*, Thesis. Surabaya:

- Universitas Airlangga.
- Andika, B., Halimatussakdiah, & Ulil, A. 2020. *Analisis Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Daun Gulma Siam (Chromolaena odorata L.) di Kota Langsa, Aceh*. Jurnal Kimia Sains dan Terapan Vol. 2 No. 2.
- BPOM. 2017. *Badan Pengawasan Obat dan Makanan*. Jakarta.
- Burgos, R. A., Imilan, M., Sanchez, N. S., & Hancke, J. L. 2000. *Andrographis paniculata (Nees) selectively blocks voltage-operated calcium channels in rat vas deferens*. J Ethnopharmacol. 71(1-2), 115-121.
- Fauziah, Lidia, M., & Hardiana. 2021. *Gambaran Penggunaan Obat Tradisional pada Masyarakat Desa Pulo Secara Swamedikasi*. Jurnal Sains & Kesehatan Darussalam Vol. 1 no. 1, Hal. 37-5.
- Kawuri, W. T., Ratih, D. Y., & Novan, A. S. 2019. *Efek Antihistamin Ekstrak Daun Jambu Biji (Psidium guajava) Pada Tikus Putih (Rattus norvegicus) dengan diinduksi Ovalbumin*. Smart Medical Journal Vol. 2 No.1.
- Ningrum, T. S., Suprihati, & Yanuar, I. S. 2016. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Kunyit (Curcuma Longa) Terhadap Jumlah Eosinofil di Jaringan Paru pada Penyakit Alergi : Studi Eksperimental pada Mencit Balb/c yang diinduksi Ovalbumin*. Jurnal Kedokteran Diponegoro.
- Nofrianto I., Rinidar, & Armansyah TR. 2017. *Fraksi Etil Asetat Daun Sernai (Wedelia biflora) Sebagai Analgesik Dengan Metode Wrhiting Abdominal Pada Mencit (Mus musculus)*. JIMVET.01(1):007-012(2017).
- Nurhajanah, M., Agussalim L, & Hajiriah T.L 2020. *Analisis Kandungan Antiseptik Daun Kopasanda (Chromolaena odorata L.) Sebagai Dasar Pembuatan Gel Pada Luka*. Jurnal Ilmiah Biologi.
- Oktaviani, R. K., Richa, Y., & Jatmiko, S. 2016. *Efek perasan Buah Pir (Pyrus communis) Sebagai Anti Alergi pada Tikus Putih Jantan Galur Wistas yang Diinduksi Perasan Udag*. JKG Vol. 8 No. 18.
- Shishehbor, F., Behroo, L., Broujerdnia, M. G., & Mam. 2010. *Quercetin Effectively Quells Peanut-Induced Anaphylactic Reactions in the Peanut Sensitized Rats*. 9: 27-34.
- Situngkir, R., & Elysa, D. P. 2021. *Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etil Asetat Daun Takelan (Chromolaena odorata L.) R. King & H. Rob) pada tikus putih jantan (Rattus norvegicus)*. Jurnal Farmasi, Sains dan Kesehatan Vol. 1 No.1.
- Subijanto, A. A., & Diding, H. P. 2008. *Pengaruh Ekstrak Daun Ceremai (Phyllanthus acidus L. Skeels) terhadap Kadar Ig E pada Mencit Model Alergi*. Jurnal Kedokteran Yarsi Vol.16 No.1.
- Tanamal, M. T., Papilaya, P. M., & Smith, A. 2017. *Kandungan Senyawa Flavonoid pada Daun Melinjo (Gnetum gnemon L.) Berdasarkan Perbedaan Tempat Tumbuh*. Biopendix Vol. 3 No. 2, Hal. 142-147.
- Uthia, R., Helmi, A., & Feni, E. 2017. *Pengaruh Fraksinasi Ekstrak Daun Kemangi (Ocimum sanctum L.) terhadap Aktivitas Susunan Saraf Pusat Pada Mencit Putih Jantan*. Jurnal Farmasi Higea, Vol. 9 No. 1.

