

UJI REVERSIBILITAS PIPERIN SENYAWA AKTIF LADA (*Piper Nigrum* Linn)

PADA RESEPTOR β_2 -ADRENERGIK AORTA MARMUT

TERISOLASI SECARA INVITRO

*Nur Fujiati Dewi, **Puguh Novi Arsito

Lecturer, Muhammadiyah University of Yogyakarta**
Undergraduated, Muhammadiyah University of Yogyakarta*

INTISARI

Piperin senyawa dalam lada (*Piper nigrum* Linn) memiliki aktifitas antagonis non kompetitif terhadap reseptor β_2 -adrenergik yang ditandai dengan nilai Emaks yang dicapai kurang dari 100% pada dosis 10 dan 50 μ M. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efek reversibilitas interaksi piperin terhadap reseptor β_2 -adrenergik.

Penelitian ini menggunakan metode percobaan organ terisolasi. Uji reversibilitas dilakukan setelah perlakuan piperin (10 dan 50 μ M) terhadap kontraksi otot polos aorta marmut terisolasi yang diinduksi oleh agonis (seri adrenalin). Otot polos aorta dicuci selama 30 menit dengan penggantian larutan *buffer krebs* setiap lima menit, setelah dicapai kondisi stabil, selanjutnya dilakukan pengukuran kontraksi kembali dengan pemberian konsentrasi bertingkat adrenalin (2×10^{-8} - 2×10^{-3} M). Data disajikan dalam bentuk nilai pD₂ yang diperoleh dari kurva hubungan negatif logaritma konsentrasi agonis yang menghasilkan setengah respon kontraksi maksimal.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa interaksi piperin terhadap reseptor β_2 -adrenergik otot polos aorta bersifat irreversibel. Hasil analisis statistik menggunakan *One-way Anova* dan dilanjutkan dengan *post-hoc test* LSD dengan taraf kepercayaan 95% menyimpulkan bahwa nilai pD₂ adrenalin sebelum dan sesudah perlakuan piperin berbeda signifikan ($p < 0,05$).

Kata Kunci : piperin, *invitro*, isolasi organ, uji reversibilitas, reseptor β_2 -adrenergik.

ABSTRACT

Piperine, a compound found in a pepper (*Pipiper nigrum* L), has a non-competitive antagonistic activity against the β_2 -adrenergic receptor characterized by an obtained value which is less than 100% at doses 10 and 50 μM . This study aimed to evaluate the piperine reversibility interaction effect on β_2 -adrenergic receptor.

The study used an isolated organ method. The reversibility test was conducted after performing the piperine treatment (10 μM and 50 μM) towards the smooth muscle contraction of isolated marmot aorta that was induced by the agonist (adrenaline series). The aorta smooth muscle was washed for 30 minutes while the buffer krebs solution was replaced every 5 minutes. After the stable condition was obtained, the contraction measurement was reconducted by giving an adrenaline concentration level (10^{-8} - 10^{-3}) M. The data were displayed in the form of pD₂ value obtained from the negative correlation of logarithmic agonist concentration resulting a half response of maximum contraction.

The results showed that piperine interaction towards β_2 -adrenergic receptor of aorta smooth muscle was irreversible. The data were analyzed statistically using One-way Anova, and post-hoc LSD test which 95% confidence level of it concluded that adrenalin pD₂ value, before and after the piperin treatment, was significantly different ($p < 0.05$).

Keywords: *piperine, invitro, an isolated organ, reversibility test, β_2 -adrenergic receptor*

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan Negara yang dilalui oleh garis khatulistiwa sehingga memiliki iklim yang tropis, hal ini menjadikan Indonesia memiliki tanah yang subur sehingga banyak ditumbuhi beranekaragam tumbuhan.¹ Salahsatu tumbuhan yang dimanfaatkan sebagai obat adalah lada (*Piper nigrum* Linn). Senyawa piperin merupakan bagian terbesar dari alkaloid yang terdapat pada tanaman lada.²

Lada (*Piper nigrum* Linn) memiliki efek spasmolitik melalui antagonisme kalsium. Setelah itu piperin diketahui tidak memiliki efek langsung terhadap jantung, meskipun menunjukkan adanya aktivitas inotropik dan kotonotropik positif yang dimediasi melalui pelepasan peptida yang terkait pada gen kalsitonin dari saraf *nonadrenergic* dan *noncholinergic* pada atrium tikus yang terisolasi.⁴

Aktivitas piperin terhadap reseptor β_2 -adrenergik memiliki sifat antagonis non kompetitif yang ditandai dengan nilai E_{max} yang dicapai kurang dari 100% pada perlakuan piperin dosis 10 dan 50 μ M. Antagonis non kompetitif bersifat tak terbalikkan (irreversible), antagonis non kompetitif merupakan suatu antagonis yang mampu mengurangi efektifitas suatu agonis dengan mekanisme berikatan pada tempat yang tidak diduduki oleh agonis.⁵

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah suatu set alat untuk preparasi organ, *vortex*, pengaduk

magnet thermostat tipe 1419 (B.Brawn, W.Germany), *transduser isotonik* (Level Transduser Tipe 365, HSE, W Germany), rekorder, duaset *organbath* volume 20mL, *bridge amplifier* tipe 336, pipet volume mikro pipet 100 dan 50 μ L.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Bufferkrebs*, gas karbogen mengandung 95% oksigen dan 5% karbondioksida, larutan adrenalin, aquadest PI, dan alkaloid lada.

Isolasi Alkaloid Lada

Lada diekstraksi menggunakan metode sokletasi dengan pelarut etil asetat. Proses ekstraksi dilakukan terhadap 100gr serbuk simplisia dengan 300mL etil asetat (1:3).

Identifikasi kristal piperin menggunakan KLT

Identifikasi kristal menggunakan KLT dengan cara sampel dilarutkan dengan etil asetat, kemudian ditotolkan pada plat *silica* menggunakan fase gerak n-butanol : asam asetat : air (4:1:5). Dan disemprot dengan pereaksi *dragendroff*. Kemudian diamati dengan sinar UV 254.

Preparasi Organ Aorta

Preparasi organ aorta dilakukan dengan cara mendislokasi bagian leher marmut jantan untuk dilakukan pembedahan. Organ aorta diambil pada bagian punggung dengan cara membersihkan semua organ di dalam tubuh marmut untuk memudahkan pengambilannya. Aorta dipotong sepanjang 2cm dan diletakkan pada cawan fiksasi yang telah diisi dengan larutan *buffer krebs*. Otot polos aorta kemudian diikat dengan benang, ujung bagian bawah diikatkan pada bagian tuas *organbath* dan pada bagian atas diikatkan pada bagian yang terhubung dengan transduser.

Uji Aktivitas Alkaloid Lada Terhadap Agonis Reseptor Fisiologis

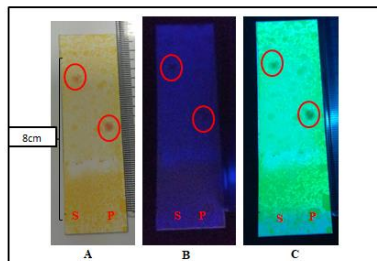
Uji aktivitas alkaloid lada terhadap agonis reseptor dilakukan untuk mengukur kontraksi aorta marmut menggunakan alat organ bath dengan konsentrasi 10 μM dan 50 μM . Pemberian agonis ke dalam *organbath* dan respon kontraksi yang terjadi akan tercatat pada rekorder (kertas *polygraf*).

Uji Reversibilitas

Uji reversibilitas dilakukan untuk melihat kemampuan organ untuk kembali pada kondisi semula, atau pada kondisi sebelum dilakukannya pengenalan agonis reseptor. Uji reversibilitas ini dilakukan pada setelah pencucian akibat perlakuan piperin dengan dosis 10 μM dan 50 μM . Pemberian agonis bertingkat akan tercatat pada rekorder.

HASIL dan PEMBAHASAN

Uji KLT Kandungan Alkaloid Lada (*Piper nigrum* Linn)



Gambar 1. Uji identifikasi KLT senyawa alkaloid lada setelah disemprot pereaksi *dragendroff*. Keterangan : (A) sinar tampak, (B) sinar UV 366, (C) sinar UV 254. (P) pembanding menggunakan kinin sulfat ($R_f = 0,50$) alkaloid lada ($R_f=0,78$).

Uji dengan pereaksi *dragendroff* memberikan hasil yang positif. Hasil KLT

menunjukkan endapan coklat muda sampai kuning (jingga).⁶ Kristal yang diperoleh merupakan alkaloid dilihat dari penampakan bercak pereaksi *dragendroff*.

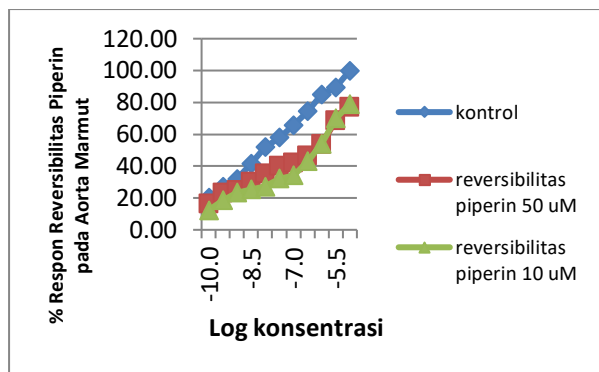
Uji Reversibilitas

Tabel 1. Pergeseran nilai pD2 dan Kenaikan Emax reversibilitas aorta marmut.

No	Kelompok Perlakuan	pD2	Emaks (%)
1	Kontrol Adrenalin	7,79 ± 0,17	100,00 ± 0,00
2	Reversibilitas Piperin 10 μM	6,28 ± 0,27*	74,12 ± 6,54
3	Reversibilitas Piperin 50 μM	6,33 ± 0,24*	73,37 ± 6,22

Keterangan : Nilai pD2 disajikan dalam bentuk rata-rata ± SEM. Berdasarkan Uji statistika menggunakan metode *one-way Anova* dengan tingkat kepercayaan 95% dilanjutkan dengan uji LSD menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$) terhadap nilai pD2 adrenalin kontrol (*).

Tabel 2 menunjukkan nilai pD2 yang berbeda dan secara statistik menunjukkan hasil yang berbeda signifikan antara kontrol dan kelompok uji reversibilitas alkaloid lada 10 μM dan 50 μM menggunakan *one-way Anova* ($p < 0,05$). Hal tersebut dapat disimpulkan bahwa ikatan alkaloid lada tidak terlepas sempurna setelah pencucian setiap 5 menit selama 30 menit. Sehingga ikatan alkaloid lada dengan reseptor β_2 -adrenergik bersifat irreversible.



Gambar 2. Kurva hubungan logaritma konsentrasi adrenalin terhadap % respon kontraksi otot polos aorta marmut terisolasi, baik tanpa atau dengan pemberian piperin 10 μM dan 50 μM presentase respon kontraksi 100% diukur berdasarkan kontraksi maksimal yang dicapai oleh seri konsentrasi adrenalin (kontrol). Presentase respon kontraksi disajikan dalam bentuk rata-rata \pm SEM (5-10).

Gambar 2 menunjukkan kurva melandai secara signifikan dan mengalami penurunan pD_2 sehingga bisa diartikan bahwa hasil kontraksi reversibilitas menunjukkan irreversible.

Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai uji reversibilitas piperin pada reseptor lain.
2. Perlu dilakukan uji toksisitas piperin terhadap reseptor β_2 -adrenergik aorta marmut terisolasi.

DAFTAR PUSTAKA

1. Sinambela, J.M.2002. Pemamfaatan Plasma Nutfah dalam Industri Jamu dan

Kosmetika Alami. *Buletin Plasma Nutfah* 8(2):78-79.

2. Epstein, W. W., Netz, D. F., & Seidel, J.L., (1993), Isolation of alkaloid ladae from black paper, *Journal of Chemical Education*, 70, 598.
3. Antony, A. S., JayaSankar, K., Roy, P. D., Vadivelan, R., Satish Kumar, M. N., & Elango, K. (2010), Pharmacological and biomolecular investigations of a polyherbal formulation (AAF-6) for its antiasthmatic activity. *International Journal of Green Pharmacy*, 4(4), 257.
4. Miyauchi T, Ishikawa T, Sugishita Y, Sugishita Y, Saito A, Goto K., (1989), Involvement of calcitonin gene-related peptide in the positive chronotropic and inotropic effects of piperine and development of cross-tachyphylaxis between piperine and capsaicin in the isolated rat atria. *J Pharmacol Exp Ther.*;248: 816–824.
5. Putra, Nanda. PPI., (2018), uji Aktivitas Antagonisme Piperin (*Piper nigrum* L.) pada reseptor β_2 -adrenergik organ aorta marmut terisolasi : studi invitro dan insilico. *Skripsi*, Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.
6. Marliana, Soerya Dewi., Venty, S., Suyono, (2005), *Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (Sechium edule Jacq. Swart) dalam Ekstrak Etanol*, Biofarmasi 3 (1): 2631, Februari 2005, ISSN : 1693-2242.