

**KARYA TULIS ILMIAH**

**UJI AKTIVITAS ANTAGONISME ISOLAT ALKALOID LADA  
(*Piper nigrum* Linn.) PADA RESEPTOR ASETILKOLIN OTOT POLOS  
ILEUM MARMUT TERISOLASI: STUDI *IN VITRO* DAN *IN SILICO***

**Disusun untuk Memenuhi Syarat Memperoleh Derajat  
Sarjana Farmasi pada Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan  
Universitas Muhammadiyah Yogyakarta**



**Disusun oleh**

**INDAH MUTIARA**

**2012 035 0005**

**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH YOGYAKARTA**

**2016**

## HALAMAN PENGESAHAN

UJI AKTIVITAS ANTAGONISME ISOLAT ALKALOID LADA (*Piper nigrum*  
Linn.) PADA RESEPTOR ASETILKOLIN OTOT POLOS ILEUM MARMUT  
TERISOLASI: STUDI *IN VITRO* DAN *IN SILICO*

Disusun Oleh  
**Indah Mutiara**  
20120350005

Telah disetujui dan diseminarkan pada tanggal 29 Agustus 2016

Dosen Pembimbing



Puguh Novi Arsito, M.Sc., Apt  
NIK. 1986 1107 201310 173 224

Dosen Penguji 1



Sri Tasminatun, M.Si., Apt.  
NIK. 1971 1106 199904 173 036

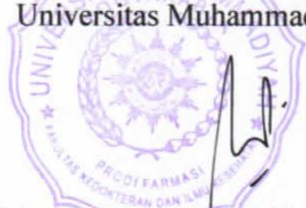
Dosen Penguji 2



Dra. Salmah Orbayinah, M.Kes., Apt.  
NIK. 1968 0229 199409 173 008

Mengetahui,

Ketua Program Studi Farmasi  
Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan  
Universitas Muhammadiyah Yogyakarta



Sabtanti Harimurti, S.Si., M.Sc., Ph.D., Apt.  
NIK. 1973 0223 201310 173 127

## **PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN**

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Indah Mutiara

NIM : 2012 035 0005

Program Studi : Farmasi

Fakultas : Kedokteran dan Ilmu Kesehatan

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa Karya Tulis Ilmiah yang saya tulis benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri dan belum diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan tercantumkan dalam daftar pustaka dibagian akhir Karya Tulis Ilmiah ini.

Apabila di kemudian hari terbukti atau dibuktikan Karya Tulis Ilmiah ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Yogyakarta, 29 Agustus 2016

Yang membuat pernyataan

Indah Mutiara  
NIM: 2012 035 0005

## **MOTTO**

*“Hari ini saya tidak merasa takut, tidak mau gagal, tidak mau takut berbahagia untuk menikmati yang indah, untuk dicintai, dan meyakini bahwa yang saya cintai juga mencintai saya.”*

**(Sibyl F Patridge)**

*“Berusaha menjadi yang terbaik dan memberi yang terbaik dari diri kita untuk orang lain adalah “INVESTASI” yang paling menguntungkan”.*

**(Do. Mahardika).**

*“Kesabaran adalah tunggakan yang tak akan terperosok”*

**(Ali bin Abi Thalib)**

## HALAMAN PERSEMBAHAN

*Karya tulis ilmiah ini penulis persembahkan kepada Ibunda Desmiwati dan Ayahanda H. Asyral beserta kakak dan adikku tersayang, Dita Lestari dan Arif Muhammad Akbar yang selama ini menjadi panutan sekaligus menjadi inspirasiku untuk segera menyelesaikan tugas akhir ini dengan penuh semangat.*

## KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirobbil‘alamin, puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT karena berkat rahmat, hidayah, dan karunia-Nya akhirnya penulis dapat menyelesaikan karya tulis ilmiah dengan judul “Uji aktivitas antagonisme isolat alkaloid *Piper nigrum* Linn. pada reseptor asetilkolin otot polos ileum marmut terisolasi: studi *in vitro* dan *in silico*”.

Penulis menyadari bahwa Karya Tulis Ilmiah ini dibuat atas bantuan dari berbagai pihak. Untuk itu sudah sepantasnya penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. dr. Ardi Pramono Sp.An., M.Kes. selaku Dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.
2. Sabtanti Harimurti, S.Si., M.Sc., Ph.D., Apt. selaku Ketua Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.
3. Dra. Sri Kadarinah., Apt. Selaku Dosen Pembimbing Akademik. Terimakasih untuk bimbingan selama penulis menempuh pendidikan.
4. Puguh Novi Arsito, M.Sc.,Apt selaku dosen pembimbing penulis. Terimakasih untuk kesabaran dalam memberikan bimbingan, ilmu, saran serta kepercayaan selama penelitian dan penulisan karya tulis ini.
5. Sri Tasminatun,M.Sc., Apt dan Dra. Salmah Orbayinah, M.Kes., Apt selaku dosen penguji yang telah bersedia memberikan saran dan bimbingan sehingga Karya Tulis ilmiah ini dapat menjadi lebih baik lagi.

6. Bapak/Ibu dosen pengajar yang telah mendidik penulis selama masa perkuliahan.
7. Mas Satria dan Mbak Zelmi yang selalu bersedia membantu selama proses penelitian.
8. Sepupuku tersayang, Dwi Kurnia Putri yang selalu mengingatkan dan memotivasi untuk terus bersemangat dan pantang menyerah.
9. Kepada teman sekaligus sahabat yang selalu ada dan sama-sama berjuang Risang Setyobudi, Afnalya Sari dan Chakra Haadi Saputro.
10. Teman seperjuangan penelitian Ratih Dwi Amaliah dan Tamam Wahyudi, yang saling dan selalu membantu selama penelitian.
11. Saidatun Nurjihani dan Dwi Wahyu M. yang menjadi soulmate selama kuliah.
12. Teman sepembimbingan, Aditya Rizqy AS, Annisa Rizky, Sari N dan Hengky W, dan Apriadis beserta teman-teman “ASPARTIC” terima kasih bantuan dan dukungannya.
13. Lembaga Penelitian Publikasi dan Pengabdian Masyarakat Universitas Muhamadiyah Yogyakarta yang telah memberikan dana penelitian melalui Program Penelitian Unggulan Program Studi Farmasi.

Yogyakarta, 29 Agustus 2016

Penulis

Indah Mutiara

## DAFTAR ISI

KARYA TULIS ILMIAH.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN .....	ii
MOTTO .....	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN .....	v
KATA PENGANTAR .....	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
INTISARI .....	xv
<i>ABSTRACT</i> .....	xvi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang .....	1
B. Perumusan Masalah .....	3
C. Keaslian Penelitian.....	3
D. Tujuan Penelitian .....	4
E. Manfaat Penelitian .....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	5
A. Tanaman Lada ( <i>Piper nigrum</i> Linn.) .....	5
1. Uraian Tanaman .....	5
2. Kandungan dan Manfaat <i>Piper nigrum</i> Linn. ....	7
B. Analisis Kandungan Alkaloid Lada <i>Piper nigrum</i> Linn .....	7
C. Reseptor Asetilkolin.....	11
D. Interaksi Obat Dengan Reseptor .....	12
1. Obat Agonis dan Antagonis .....	12
2. Hubungan Konsentrasi Obat dengan Respon.....	13
E. Percobaan Dengan Organ Terisolasi .....	13
F. Metode <i>In silico</i> Menggunakan <i>Molecular Docking</i> .....	15
G. Landasan Teori.....	16



H. Kerangka Konsep.....	17
N. Hipotesis.....	17
BAB III METODE PENELITIAN .....	18
A. Desain Penelitian.....	18
B. Tempat dan Waktu .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
C. Bahan Uji .....	18
D. Identifikasi Variabel.....	18
1. Variabel Bebas .....	18
2. Variabel Kendali .....	18
3. Variabel Tergantung.....	18
E. ALAT DAN BAHAN .....	19
1. Bahan.....	19
2. Alat.....	19
F. PROSEDUR KERJA DAN ALUR PENELITIAN.....	20
1. Identifikasi Kristal Alkaloid Lada <i>Piper nigrum</i> Linn. Menggunakan KLT .....	20
2. Identifikasi Kristal Alkaloid Lada <i>Piper nigrum</i> Linn. Menggunakan FTIR.....	20
3. Identifikasi Alkaloid Lada <i>Piper nigrum</i> Linn. Dengan Spektrofotometri UV .	20
4. Identifikasi Alkaloid Lada <i>Piper nigrum</i> Linn. Dengan Uji Titik Lebur .....	20
5. Penyiapan Larutan <i>Buffer Tyrode</i> .....	21
6. Penyiapan Larutan <i>Piper nigrum</i> Linn. (1000 µM dan 5000 µM).....	21
8. Pembuatan Larutan Atropin 10 <sup>-6</sup> (1 µM).....	22
9. Preparasi Organ Ileum (Lee, <i>et.al.</i> , 1997) .....	22
10. Uji Aktivitas Alkaloid Lada Terhadap Agonis Reseptor Fisiologis.....	23
11. Uji Reversibilitas.....	24
12. Uji Pelarut DMSO (Dimetil Sulfoksida).....	25
13. Uji <i>In silico</i> .....	25
H. DATA DAN ANALISA DATA .....	29
1. Identifikasi Kristal Alkaloid Lada <i>Piper nigrum</i> Linn. Dengan KLT .....	29
2. Identifikasi Kristal Alkaloid Lada <i>Piper nigrum</i> Linn. Dengan FTIR .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
3. Identifikasi Kristal <i>Piper nigrum</i> Linn. Dengan Spktrofotometri UV .....	30
4. Identifikasi Kristal Alkaloid Lada <i>Piper nigrum</i> Linn. Dengan Titik Lebur .....	30
5. Uji <i>In vitro</i> .....	30

6. Uji <i>In silico</i> .....	30
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....	33
A. Isolasi Kristal Alkaloid Lada <i>Piper nigrum</i> Linn.....	33
1. Uji KLT Kandungan Alkaloid Lada <i>Piper nigrum</i> Linn.....	34
2. Uji <i>FTIR</i> Kristal Alkaloid Lada <i>Piper nigrum</i> Linn.....	35
3. Uji Spektrofotometer UV Kristal Alkaloid Lada <i>Piper nigrum</i> Linn. ....	37
4. Uji Titik Lebur .....	37
B. Uji <i>In vitro</i> Aktivitas Alkaloid Lada <i>Piper nigrum</i> Linn. ....	38
1. Uji Pendahuluan Pengaruh DMSO Terhadap Kontraksi Otot Polos Ileum.....	38
2. Pengaruh Alkaloid Lada <i>Piper nigrum</i> Linn.Terhadap Reseptor ACh M3 Otot Polos Ileum.....	40
3. Uji Pembanding Menggunakan Atropin (Kontrol Positif) .....	46
C. Uji <i>In silico</i> Senyawa Alkaloid Lada <i>Piper nigrum</i> Linn. Pada Reseptor ACh .....	47
1. Validasi protokol <i>docking</i> .....	47
2. Hasil Molecular <i>Docking</i> .....	48
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	51
DAFTAR PUSTAKA .....	52
LAMPIRAN.....	55

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel 1.</b>	Komposisi <i>Buffer Tyrode</i> .....	21
<b>Tabel 2.</b>	Cara Pemberian Dosis Agonis Asetilkolin .....	24
<b>Tabel 3.</b>	Perbandingan Nilai Serapan IR Gugus Ikatan Senyawa Alkaloid Lada <i>Piper nigrum</i> Linn.....	36
<b>Tabel 4.</b>	Nilai Rata-Rata pD <sub>2</sub> Asetilkolin Karena Pengaruh DMSO 100µL.....	39
<b>Tabel 5.</b>	Pergeseran Nilai pD <sub>2</sub> Asetilkolin Karena Pengaruh Alkaloid Lada <i>Piper nigrum</i> Linn. 1000 µM dan 5000 µM.....	42
<b>Tabel 6.</b>	Pergeseran Nilai pD <sub>2</sub> Asetilkolin Pada Uji Reversibilitas Alkaloid Lada <i>Piper nigrum</i> Linn. 1000 µM dan 5000 µM Terhadap Reseptor ACh.....	45
<b>Tabel 7.</b>	Pergeseran nilai pD <sub>2</sub> asetilkolin karena pengaruh atropin 1000 µM dan 5000 µM.....	47

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar 1.</b>	Tanaman Lada ( <i>Piper nigrum</i> Linn.).....	5
<b>Gambar 2.</b>	Struktur Kimia Piperin.....	7
<b>Gambar 3.</b>	Struktur Kimia Asetilkolin .....	12
<b>Gambar 4.</b>	Kerangka Konsep .....	17
<b>Gambar 5.</b>	Skema Langkah Kerja.....	29
<b>Gambar 6.</b>	Kristal Piperin .....	33
<b>Gambar 7.</b>	Uji Pendahuluan KLT Senyawa Alkaloid Lada <i>Piper nigrum</i> Linn.....	34
<b>Gambar 8.</b>	Reaksi antara Alkaloid Lada <i>Piper nigrum</i> Linn. dan <i>Dragendorf</i> .....	35
<b>Gambar 9.</b>	<i>FTIR</i> Kristal Alkaloid Lada <i>Piper nigrum</i> Linn.....	36
<b>Gambar 10.</b>	Hasil Uji Spektrofotometri UV .....	37
<b>Gambar 11.</b>	Pengaruh DMSO terhadap Respon Kontraksi Otot Polos Ileum Diinduksi Asetilkolin.....	43
<b>Gambar 12.</b>	Kurva Hubungan Logaritma Konsentrasi Piperin terhadap % Respon Kontraksi Otot Polos.....	
<b>Gambar 13.</b>	Kurva Schild-Plot Perhitungan Parameter Antagonis (pA <sub>2</sub> ) Alkaloid Lada <i>Piper nigrum</i> Linn. terhadap Reseptor ACh M <sub>3</sub> .....	47
<b>Gambar 14.</b>	Kurva Hubungan Logaritma Konsentrasi Asetilkolin terhadap % Respon Kontraksi Otot Polos.....	49
<b>Gambar 15.</b>	Kurva Hubungan Logaritma Konsentrasi Atropin terhadap % Respon Kontraksi Otot Polos.....	49
<b>Gambar 16.</b>	Posisi Senyawa Tipropium Ketika Terikat ke Reseptor ACh M <sub>3</sub> .....	50
<b>Gambar 17.</b>	Posisi senyawa Atropin ketika terikat ke reseptor ACh M <sub>3</sub> ...	
<b>Gambar 18.</b>	Posisi senyawa alkaloid lada <i>Piper nigrum</i> L. ketika terikat ke reseptor ACh M <sub>3</sub> .....	

## DAFTAR LAMPIRAN

<b>Lampiran 1.</b>	Hasil Determinasi Tanaman.....	56
<b>Lampiran 2.</b>	Hasil <i>FTIR</i> Kristal Alkaloid lada <i>Piper nigrum</i> Linn.....	57
<b>Lampiran 3.</b>	Hasil Uji Titik Lebur Kristal Alkaloid Lada <i>Piper nigrum</i> Linn.....	58
<b>Lampiran 4.</b>	Data Rekorder pada Uji <i>In Vitro</i> .....	59
<b>Lampiran 5.</b>	Data Pengaruh DMSO terhadap Kontraksi Otot Polos ileum	62
<b>Lampiran 6</b>	Data Pengaruh Alkaloid Lada <i>Piper nigrum</i> Linn. terhadap Reseptor                    ACh                    Otot                    Polos Ileum.....	64
<b>Lampiran 7.</b>	Data Uji Reversibilitas Alkaloid Lada <i>Piper nigrum</i> Linn. 1000 $\mu$ M dan 5000 $\mu$ M terhadap Reseptor ACh Otot Polos ileum.....	67
<b>Lampiran 8.</b>	Data Pengaruh Atropin terhadap Reseptor ACh Otot Polos Ileum.....	70
<b>Lampiran 9.</b>	Perhitungan Parameter Antagonis ( $pA_2$ ) Alkaloid Lada <i>Piper nigrum</i> Linn. terhadap Reseptor ACh.....	73
<b>Lampiran 10.</b>	Hasil Uji Statistik pada Uji Pengaruh Pelarut DMSO terhadap Kontraksi Otot Polos Ileum.....	74
<b>Lampiran 11.</b>	Hasil Uji Statistik Reversibilitas Kontraksi Otot Polos Ileum.	76
<b>Lampiran 12.</b>	Hasil Uji Statistik pada Uji Pengaruh Alkaloid Lada <i>Piper</i> <i>nigrum</i> Linn. Dan Asetilkolin Terhadap Kontraksi Otot Polos    Ileum    Yang    Diinduksi    Atropine .....	78
<b>Lampiran 13.</b>	Hasil Skor <i>Docking</i> Pada Reseptor ACh M3.....	81



## INTISARI

Lada putih (*Piper nigrum* L.) mengandung Piperin. Piperin dapat menghambat pelepasan histamin dari sel mast dengan jalan menghambat jalur signal yang dimediasi oleh IgE. Piperin diduga memiliki aksi antagonisme terhadap reseptor asetilkolin. Tujuan penelitian untuk mengetahui pengaruh alkaloid lada (*Piper nigrum* Linn.) secara *in vitro* terhadap kontraksi otot polos ileum dan untuk mengetahui afinitas senyawa piperin terhadap reseptor asetilkolin secara *in silico*.

Biji *Piper nigrum* Linn. di sokhletasi menggunakan pelarut etil asetat. Hasil ekstraksi diidentifikasi menggunakan KLT, uji titik lebur, FTIR dan spektrofotometri UV-Vis. Alkaloid lada *Piper nigrum* Linn. diuji *in vitro* dosis 1000  $\mu\text{M}$  dan 5000  $\mu\text{M}$  untuk melihat respon kontraksi dan relaksasi organ ileum marmut terisolasi. Uji *in silico* dilakukan untuk melihat skor *Piper nigrum* Linn. terhadap reseptor ACh menggunakan perangkat lunak *AutoDock*. Data hasil pengujian *in vitro* dianalisis menggunakan *one way ANOVA* dan LSD dengan taraf kepercayaan 95%.

Hasil identifikasi pada uji KLT menunjukkan adanya bercak coklat muda sampai kuning (positif mengandung alkaloid). Titik lebur senyawa alkaloid *Piper nigrum* Linn. adalah 122-132<sup>0</sup>C (kurang murni) dan hasil uji spektrofotometri menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki gugus fungsi C-H aromatik (3008,95), C=C asimetrik dan simetrik (1635,4), C=C aromatik (1581,63), -C-O-N- (1635,4), C-O (925,83), =C-O-C (1249,87) serta memiliki panjang gelombang maksimum 342,5 nm. Nilai pD<sub>2</sub> *Piper nigrum* Linn. dosis 1000  $\mu\text{M}$  dan 5000  $\mu\text{M}$  adalah berturut-turut 3,89 dan 3,94. Nilai pD<sub>2</sub> tersebut tidak beda signifikan ( $p < 0,05$ ) dalam menghambat kontraksi otot polos ileum. Alkaloid lada *Piper nigrum* Linn. mampu menghambat kontraksi ileum marmut yang diinduksi agonis asetilkolin dan memiliki skor *docking* pada reseptor ACh sebesar -6,6.

Kata kunci: alkaloid lada, ileum, *in silico*, piperin, *Piper nigrum* Linn., reseptor ACh

## **ABSTRACT**

White pepper (*Piper nigrum* L.) containing piperine. Piperine inhibits release of histamine from mast cells (inhibiting the signaling pathway mediated by IgE) and alleged to have action an antagonism of acetylcholine receptor. The aim of this research was to know the effect of alkaloids pepper (*Piper nigrum* Linn.) against ileum smooth muscle contraction with in vitro study and to determine the affinity of piperine against the acetylcholine receptor with in silico study.

Seeds of *Piper nigrum* Linn. was extracted by soxhletation method using ethyl acetate as solvent. The results of extraction were identified by TLC, melting point test, FTIR and UV-Vis spectrophotometry. Alkaloids pepper *Piper nigrum* Linn. 1000  $\mu$ M and 5000  $\mu$ M were tested with in vitro study to see the response of contraction and relaxation of isolated guinea pig ileum organ and in silico study was be done to see the scores of *Piper nigrum* Linn. on ACh receptors using Autodock software. Data from in vitro study were analyzed using one-way ANOVA and LSD with confidence level at 95%.

The results of the identification of the TLC test showed a brown to yellow spot (positive alkaloid). The melting point of alkaloid *Piper nigrum* Linn. was 122-132<sup>0</sup>C (less pure) and the result of spectrophotometric assay indicated that the compound has an aromatic CH functional group (3008.95), C = C asymmetric and symmetric (1635.4), C = C aromatic (1581.63), - C-O-N- (1635.4), CO (925.83), = COC (1249.87) and has a maximum wavelength at 342.5 nm. The value pD2 of *Piper nigrum* Linn. dosage 1000  $\mu$ M and 5000  $\mu$ M are respectively 3.89 and 3.94. The pD2 value did not differ significantly ( $p < 0.05$ ) in inhibiting contraction of ileum smooth muscle. An alkaloid pepper *Piper nigrum* Linn. can inhibit the contraction of guinea pig ileum which was induced by acetylcholine agonists and this alkaloid has a score of docking on ACh receptors at -6.6.

Keywords: ACh receptors, alkaloid pepper, ileum, in silico, piperine, *Piper nigrum* L,