

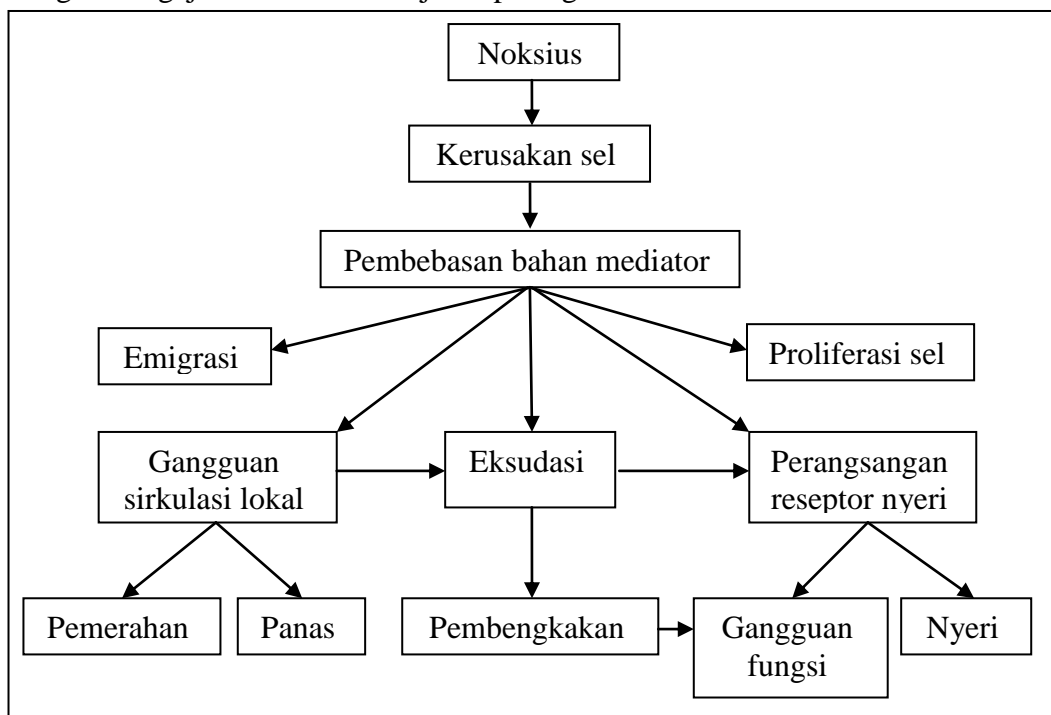
## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Inflamasi

Inflamasi berasal dari kata *inflammare* yang berarti membakar, merupakan respon protektif yang sangat diperlukan oleh tubuh dalam upaya mengembalikan ke keadaan sebelum cedera atau untuk memperbaiki diri sendiri sesudah terkena cedera. Jaringan yang mengalami inflamasi mempertahankan vitalitasnya dengan menunjukkan hal-hal seperti peningkatan permeabilitas vaskuler, vasodilatasi, akumulasi sel, dan eksudasi leukosit, nyeri, demam, dan gatal. Semua hal tadi terjadi bersamaan dalam rangkaian proses yang rumit dan hasilnya terlihat sebagai tanda-tanda klasik inflamasi yaitu *calor* (panas), *rubor* (warna merah), *tumor* (pembengkakan), *dolor* (nyeri), dan *functio laesa* (gangguan fungsional) (Wilmana, 1986).

Patogenesis gejala inflamasi disajikan pada gambar 1.



**Gambar 1.** Patogenesis dan gejala suatu peradangan (Mutschler, 1991)

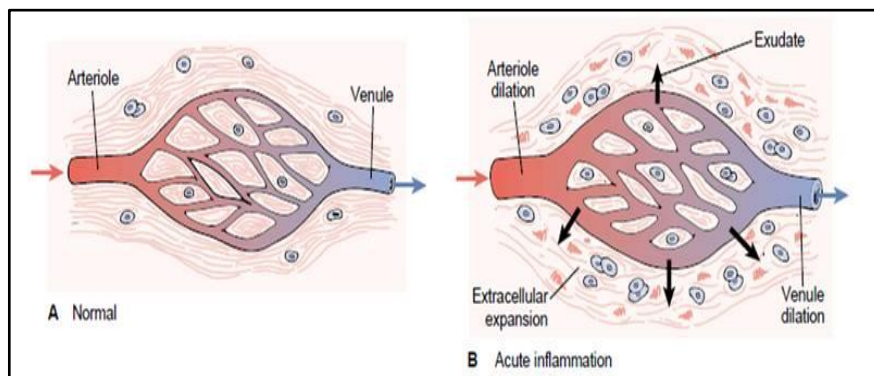
Segera setelah masuknya rangsang iritan terdapat konstriksi singkat arteriola diikuti dengan dilatasi berkepanjangan. Ini akan mengakibatkan anyaman kapiler menjadi merah dengan darah dan membukanya saluran kapiler yang tidak aktif. Aliran darah bertambah dan dapat tetap demikian atau menjadi lamban (Spector & Spector, 1993). Bila ruangnya sukar diperbesar, maka cairan eksudat dapat merangsang akhiran saraf sensorik. Akibat rangsangan ini terjadilah rasa nyeri (Spector & Spector, 1993).

Menurut Coyne (1970), respon inflamasi terjadi dalam tiga fase, yaitu (1) peningkatan permeabilitas vaskuler yang menyebabkan edema, (2) infiltrasi leukosit dan fagositosis, dan (3) proliferasi fibroblast, sintesis jaringan penghubung baru untuk memperbaiki kerusakan. Inflamasi dapat berupa inflamasi akut atau inflamasi kronik tergantung pada sifat cedera (Spector & Spector, 1993).

#### 1. Inflamasi akut

Inflamasi akut hanya terbatas pada tempat inflamasi dan menimbulkan tanda-tanda serta gejala lokal. Inflamasi akut merupakan respon langsung dan dini terhadap agen inflamasi (Robbins & Kumar, 1995). Perubahan permeabilitas vaskuler disertai keluarnya protein plasma dan sel darah putih ke dalam jaringan. Sel darah putih yang aktif adalah neutrofil dan leukosit. Tempat utama emigrasi sel darah putih adalah pertemuan antar sel endotel. Biasanya inflamasi akut ditandai dengan penimbunan neutrofil dalam jumlah banyak (Robbins & Kumar, 1995).

Pembengkakan (udema) akibat luka (*injury*) terjadi karena masuknya cairan ke dalam jaringan lunak. Neutrofil muncul dalam waktu 30–60 menit setelah terjadi *injury*. Pada daerah *injury* neutrofil tampak mengelompok sepanjang sel-sel endotel pembuluh darah. Sedangkan leukosit mulai meninggalkan pusat aliran dan bergerak ke perifer. Pengelompokan yang luar biasa dari leukosit selama masih dalam pembuluh darah disebut marginasi (Ward, 1993). Marginasi dari leukosit dapat dilihat pada gambar 2.

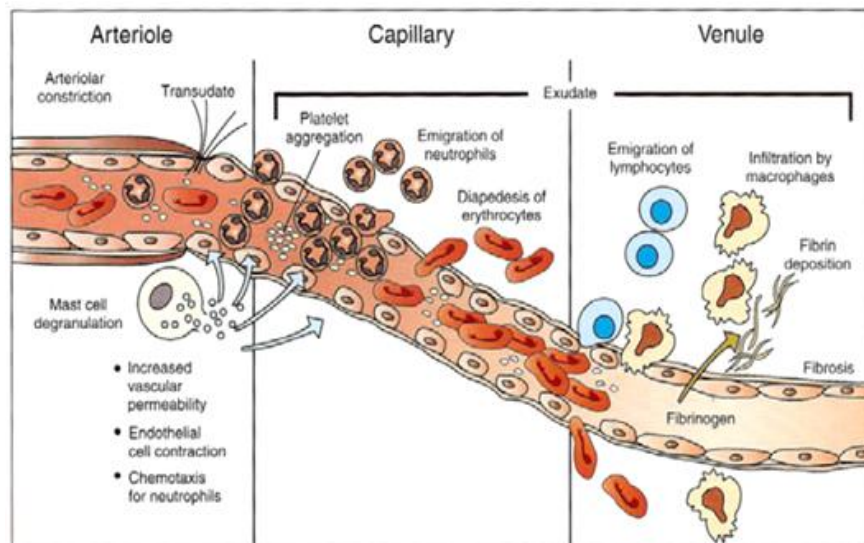


**Gambar 2.** Marginasi leukosit pada inflamasi akut (Spector & Spector, 1993)

Leukosit mulai melekat pada *endothelium* yang merupakan awal dari emigrasi leukosit menuju daerah target. Leukosit bergerak seperti amuba yaitu dapat mengulurkan pseudopodia ke dalam celah yang mungkin ada di antara dua sel endotel, kemudian mendesak sedikit demi sedikit dan kejadian berlangsung secara simultan sehingga leukosit yang dikeluarkan dari aliran darah akan masuk menuju daerah peradangan dalam waktu singkat seperti terlihat pada gambar 3. (Abrams, 1995).

Bila telah keluar dari pembuluh darah, leukosit merupakan garis pertahanan pertama terhadap agen berbahaya yang masuk ke dalam tubuh

dengan cara memfagositosis agen berbahaya tersebut (Ward, 1993). Bertambahnya permeabilitas pembuluh sering disebabkan oleh kerusakan sel endotel yang terjadi sebagai akibat gangguan struktural terhadap dinding pembuluh kapiler dan venula (Spector & Spector, 1993).



**Gambar 3.** Peningkatan permeabilitas pembuluh darah dan emigrasi leukosit pada inflamasi akut (Spector & Spector, 1993).

Kerusakan langsung jenis ini menyebabkan pembuluh ini bocor oleh karena menjadi longgarnya sambungan antar sel endotel. Ini terjadi pada berbagai cedera bakar dan cedera yang disebabkan oleh toksin kimia dan radiasi (Williams, 1989).

## 2. Inflamasi kronik

Inflamasi kronik terjadi karena rangsang yang menetap, seringkali selama beberapa minggu atau bulan, menyebabkan infiltrasi sel-sel mononuklear dan proliferasi fibroblast. Inflamasi kronik dapat timbul melalui satu atau dua jalan, dapat juga timbul mengikuti proses inflamasi akut atau responnya sejak awal bersifat kronis. Perubahan inflamasi akut

menjadi kronik berlangsung bila inflamasi akut tidak dapat reda yang disebabkan oleh agen penyebab inflamasi yang menetap atau terdapat gangguan pada proses penyembuhan normal (Robbins & Kumar, 1995).

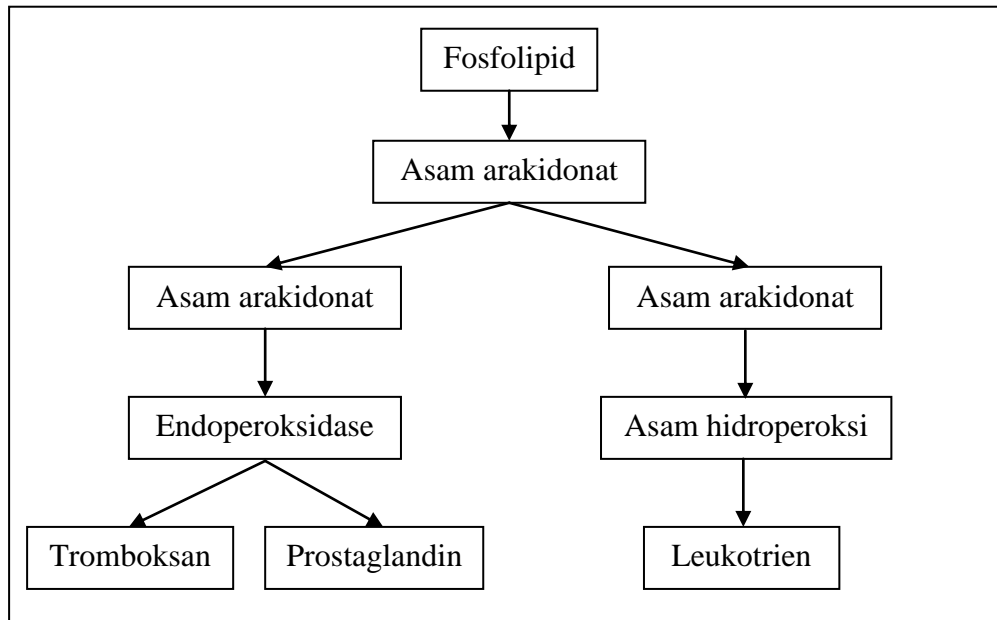
Inflamasi kronik ditandai dengan adanya sel-sel mononuklear yaitu makrofag, limfosit dan sel plasma (Robbins & Kumar, 1995). Makrofag dalam lokasi inflamasi kronik berasal dari monosit darah bermigrasi dari pembuluh darah. Makrofag tetap tertimbun pada lokasi radang, sekali berada di jaringan mampu hidup lebih lama dan melewati neutrofil yang merupakan sel radang yang muncul pertama kali. Limfosit juga tampak pada inflamasi kronik yang juga ikut serta dalam respon imun seluler dan humoral (Robbins & Kumar, 1995).

#### **B. Peranan Metabolisme Asam Arakhidonat dalam Antiinflamasi**

Bila membran sel mengalami kerusakan oleh suatu rangsangan kimiawi, fisik atau mekanis, maka enzim fosfolipase diaktifkan untuk mengubah fosfolipida menjadi asam arakhidonat. Asam arakhidonat disimpan dalam bentuk ester dari struktur fosfolipida dari membran sel kebanyakan jaringan, atau berasal dari ester trigliserida atau ester kolesterol (Wilmana, 1995).

Oleh enzim siklooksigenase, asam arakhidonat ini sebagian diubah menjadi endokperoksida dan seterusnya menjadi zat-zat prostaglandin. Bagian lainnya diubah oleh lipooksigenase menjadi asam hidroperoksida, dan zat-zat leukotrien disebut SRSA (*Slow Reacting Substance of Anaphylaxis*).

Baik prostaglandin maupun leukotrien bertanggung jawab terhadap sebagian besar gejala-gejala peradangan.



**Gambar 4.** Metabolisme asam arakhidonat dan mediator-mediator peradangan (Price and Wilson, 1995)

### C. Jalur *Cyclooxygenase* (COX)

Asam arakhidonat dimetabolisme melalui COX dalam prostaglandin G<sub>2</sub> dan setelah proses peroksidasi dalam PGH<sub>2</sub> diubah menjadi prostaglandin (PGD<sub>2</sub>, PGE<sub>2</sub>, PGF<sub>2a</sub>), prostasiklin (PGI<sub>2</sub>), dan tromboksan (TXA<sub>2</sub>) (Chandrasekharan & Simmons, 2004; Guilemany, *et al.*, 2008). Salah satu dari prostaglandin yang paling penting adalah PGE<sub>2</sub>, yang dapat melakukan fungsi yang berlawanan (misalnya, bronkodilatasi, bronkokonstriksi; anti-inflamasi dan proinflamasi), tergantung pada reseptor di permukaan sel (EP<sub>1</sub>, EP<sub>2</sub>, EP<sub>3</sub>, dan EP<sub>4</sub>) (Vancheri, *et al.*, 2004; Guilemany, *et al.*, 2008).

Adanya isoform berbeda dari enzim COX, di antaranya adalah COX-1 dan COX-2. COX-1 merupakan enzim "konstitutif" yang ditemukan pada

semua sel dengan kemampuan untuk mengendalikan beberapa proses fungsi fisiologis untuk menghasilkan prostanooids dalam kondisi basal. COX- 2 merupakan enzim induktif yang diekspresikan apabila distimulasi oleh sitokin dan *growth factor* (Turini & Dubois, 2002; Chandrasekharan & Simmons, 2004; Guilemany, *et al.*, 2008).

#### D. Tanaman *Piper nigrum* L.

Kedudukan lada (*Piper nigrum* L.) dalam taksonomi tumbuhan adalah sebagai berikut :

Divisi	: Spermatophyta
Sub Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Bangsa	: Piperales
Suku	: Piperaceae
Marga	: Piper
Jenis	: <i>Piper nigrum</i> L.

(Backer & Van den Brink, 1965)



**Gambar 5.** Tanaman lada (*Piper nigrum* L.)  
(Parthasarathy, *et al.*, 2008)

Nama lain dari lada adalah pedes (Sunda) dan merica (Jawa). Lada (*Piper nigrum* L.), famili *Piperaceae* sudah dikenal sebagai penyedap makanan, mengatasi bau badan, serta pengawet daging (Septiatin, 2008). Ada dua macam lada yang dikenal masyarakat Indonesia yaitu lada hitam dan lada putih. Lada hitam diperoleh dengan memetik buah yang masih hijau, mengupasnya, difermentasi untuk menambah rasa lada, kemudian dikeringkan di bawah sinar matahari, dan rasanya lebih pedas. Sedangkan lada putih diperoleh dengan memetik biji masak merah, diremas perlahan-lahan dan direndam dalam air, kulit dan daging buah dibuang sebelum dikeringkan di sinar matahari (Septiatin, 2008)

Nama daerah dari *Piper nigrum* L. adalah sebagai berikut: Marica, Mariyos, Mrica, Saang (Jawa); Lada, Pedes (Sunda); Sanang, Kambangsa (Madura); Koro-koro (Aceh) (Heyne, 1987). Deskripsi dari *Piper nigrum* L. adalah sebagai berikut: tumbuh-tumbuhan memanjat, batang 5–15 m. Daun berseling atau tersebar, bertangkai, dengan daun penumpu yang cepat rontok, dan meninggalkan bekas yang berbentuk cincin. Helai daun bulat telur sampai memanjang, dengan ujung meruncing, 8–20 kali 5–15 cm, bagian bawah terisi dengan kelenjar kecil, tenggelam dan rapat. Bulir berdiri sendiri, di ujung, berhadapan dengan daun, menggantung; tangkai 1–3,5 cm; sumbu 3,2–22 cm. Daun pelindung memanjang, panjang 4–5 mm. Tangkai sari panjang lebih kurang 1 mm, kepala putik 2–5, kebanyakan 3–4. Buah buni lebih kurang bentuk bola. Bunga berkelamin 2. Benang sari 2. Buah buni



duduk, bersandar pada daun pelindung yang bertemu menjadi serupa mangkok, hijau, lalu menjadi merah, akhirnya hitam (Van Steenis, 2002).

Kandungan kimia dan kegunaan dari *Piper nigrum* L. adalah sebagai berikut: buah *Piper nigrum* L. mengandung saponin, flavonoid dan minyak atsiri yang berkhasiat sebagai obat perut kembung, obat tekanan darah tinggi, obat sesak nafas, dan peluruh keringat (Hutapea & Syamsuhidayat, 1991).

## **E. Isolasi Alkaloid**

### **1. Senyawa Alkaloid**

Alkaloid adalah senyawa yang bersifat basa, mengandung satu atau lebih atom nitrogen, umumnya berbentuk siklik, serta bereaksi dengan pereaksi alkaloid. Umumnya alkaloid berbentuk kristal padat dan sebagian kecil bersifat cair dan terasa pahit (Harborne, 1987). Fungsi alkaloid pada tanaman adalah sebagai bahan cadangan untuk sintesis protein, sebagai zat untuk melindungi dari serangan hewan, sebagai stimulan atau pengatur seperti hormon dan sebagai produk untuk detoksikasi. (Ikan, 1969).

### **2. Isolasi**

Banyak senyawa kimia yang terkandung dalam tumbuhan. Salah satu senyawa kimia dalam tumbuhan tersebut diketahui memiliki khasiat yang baik bagi tubuh. Untuk memperoleh salah satu senyawa berkhasiat yang terkandung dalam tumbuhan tersebut diperlukan suatu cara yang disebut isolasi. Metode yang sering digunakan untuk mengisolasi suatu senyawa adalah kromatografi. Kromatografi adalah proses pemisahan yang diperoleh dari distribusi senyawa yang dipisahkan di antara dua fase yaitu,

fase diam dan fase gerak. Zat terlarut terdistribusi dalam fase gerak akan bergerak lebih cepat melewati sistem dibandingkan dalam fase diam (Cazes & Scott, 2002).

### 3. Ekstraksi

Ekstraksi adalah kegiatan untuk memisahkan senyawa aktif dari campurannya, menggunakan pelarut dengan tingkat kepolaran yang sesuai dan dengan prosedur ekstraksi tertentu. Tujuan ekstraksi tersebut untuk mendapatkan komponen kimia yang dikehendaki berdasarkan perbedaan kelarutan dalam suatu bahan kasar atau dalam simplisia.

Bahan alam yang akan diekstraksi umumnya dilakukan pengeringan dan dibuat dalam bentuk serbuk. Pengeringan ini bertujuan untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lama (Harborne, 1987). Hal tersebut disebabkan karena pengeringan dapat menurunkan kadar air sehingga menurunkan reaksi enzimatik, namun dalam proses pengeringan harus tetap diawasi untuk mencegah terjadinya perubahan kimia yang berlebihan (Harborne, 1987). Sedangkan pembuatan dalam bentuk serbuk dimaksudkan untuk memperluas permukaan sehingga meningkatkan kontak dengan cairan penyari.

Secara umum prinsip ekstraksi adalah pengikatan atau pelarutan zat yang diinginkan dalam suatu simplisia berdasarkan sifat kelarutannya dengan suatu pelarut (*like-dissolve-like*). Pengeringan bahan akan menguapkan air dalam simplisia sehingga serbuk simplisia akan timbul

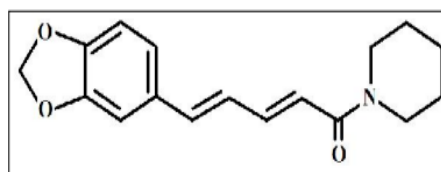
suatu pori-pori. Pelarut kemudian mengisi pori-pori tersebut sehingga pelarut akan kontak dengan zat aktif dalam tanaman sehingga zat-zat aktif tersebut akan melarutkan isi sel karena perbedaan konsentrasi dalam sel dan di luar sel. Zat aktif yang sudah terlarut kemudian akan keluar sel secara difusi. Proses difusi akan berkurang apabila konsentrasi pelarut mencapai kesetimbangan antara dalam sel dan di luar sel. Metode dalam ekstraksi umumnya dibedakan menjadi 2, yaitu dengan cara panas dan cara dingin. Metode cara panas misalnya adalah refluks, sokletasi, digesti, infus, dan dekok. Sedangkan cara dingin meliputi maserasi dan perkolasi (Ditjen POM, 2000). Alkaloid dapat diisolasi melalui salah satu metode ekstraksi yaitu sokletasi.

*Soxhlet* merupakan ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru, umumnya dilakukan menggunakan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi konstan dengan adanya pendingin balik (kondensor). Sampel disimpan dalam alat *soxhlet* dan tidak dicampur langsung dengan pelarut dalam wadah yang di panaskan, yang dipanaskan hanyalah pelarutnya, pelarut terdinginkan dalam kondensor dan pelarut dingin inilah yang selanjutnya mengekstraksi sampel.

Penarikan komponen kimia yang dilakukan dengan cara serbuk simplisia ditempatkan dalam klonsong yang telah dilapisi kertas saring sedemikian rupa, cairan penyari dipanaskan dalam labu alas bulat sehingga menguap dan dikondensasikan oleh kondensor bola menjadi molekul-molekul cairan penyari yang jatuh ke dalam klonsong menyari zat aktif di

dalam simplisia dan jika cairan penyari telah mencapai permukaan sifon, seluruh cairan akan turun kembali ke labu alas bulat melalui pipa kapiler hingga terjadi sirkulasi. Ekstraksi sempurna ditandai bila cairan di sifon tidak berwarna, atau sirkulasi telah mencapai 20-25 kali.

#### F. Piperin



**Gambar 6.** Struktur kimia piperin  
(Epstein, *et al.*, 1993)

Piperin merupakan alkaloid basa lemah, kristal berbentuk jarum, berwarna kuning dan rasa pedas. Hampir tidak larut dalam air (40 mg/liter, pada suhu 18<sup>0</sup>C) dan protoleum eter; 1 g larut dalam alkohol, 17 ml kloroform, 36 ml eter dan larut dalam benzena dan asam asetat (Windholz, 1981).

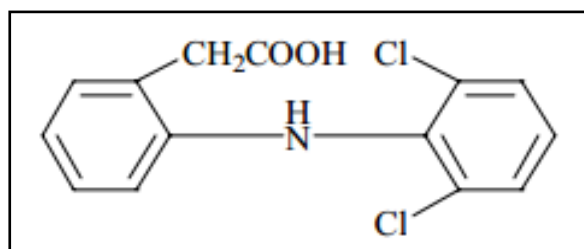
Piperin digunakan untuk memberikan rasa pedas pada *brandy* (minuman keras) dan sebagai insektisida (Windholz, 1981). Senyawa piperonal mungkin berasal dari degradasi piperin (Sarwono, 1988). *Piperine* merupakan salah satu zat aktif dari lada (*Piper nigrum* L.) yang mampu menghambat enzim-enzim yang terlibat dalam biotransformasi obat.

#### G. Natrium Diklofenak

Natrium Diklofenak merupakan garam dari diklofenak. Diklofenak mempunyai sifat antiinflamasi, analgetik dan antipiretik yang kuat seperti obat-obat antiinflamasi non steroid lainnya. Natrium Diklofenak merupakan derivat fenilasetat. Absorbsinya dari usus lengkap dan cepat, dari rektum

lebih besar lagi, mulai bekerjanya masing-masing sesudah 1 dan 0,5 jam. Kadar puncak dalam plasma dicapai setelah dua jam. Sebesar 99% terikat pada protein plasma dan waktu paruh eliminasinya antara 1–2 jam. Diklofenak mengalami metabolisme lintasan pertama, dalam hati dimetabolisme hampir sempurna. Ekskresinya berlangsung sebagian dalam kemih sebagai glukoronida dan sisanya dalam empedu dan tinja (ekskresi obat yang utuh melalui ginjal kurang dari 1%) (Tjay & Rahardja, 2002).

Efek samping yang lazim adalah mual, gastritis, eritema kulit, dan sakit kepala sama seperti semua obat AINS. Pemakaian obat ini harus berhati-hati pada penderita tukak lambung. Peningkatan enzim transaminase dapat terjadi pada 15% pasien dan umumnya kembali normal. Pemakaian selama kehamilan tidak dianjurkan. Dosis orang dewasa 100 – 150 mg sehari terbagi dua atau tiga dosis (Wilmana, 1995). Struktur diklofenak disajikan pada gambar 7.



**Gambar 7.** Struktur kimia diklofenak (Mutschler, 1991)

## H. Karagenin

Karagenin yang diperoleh dari ekstrak *Chondrus crispus* merupakan mukopolisakarida yang disusun oleh monomer unit galaktosa. Karagenin mampu menginduksi reaksi inflamasi yang bersifat akut, non-imun, dapat diamati dengan baik, dan mempunyai reproduibilitas tinggi (Morris, 2003).

Karagenin akan menginduksi cedera sel dengan dilepaskannya mediator yang mengawali proses inflamasi. Pada awalnya masih terjadi adaptasi untuk melepaskan mediator inflamasi, berarti pelepasan mediator inflamasi belum maksimal. Setelah pelepasan mediator maksimal, terjadi edema maksimal dan mampu bertahan sampai beberapa jam. Edema yang disebabkan induksi karagenin dapat bertahan selama 6 jam dan berangsur berkurang dalam waktu 24 jam (Sumarny & Rahayu, 1994). Karagenin mempunyai keunggulan yaitu efeknya bisa lebih dari 4 jam walaupun butuh waktu untuk menginduksi edema (Garattinis, *et al.*, 1964). Waktu laten pada karagenin kurang lebih 1 jam sebelum terjadi pembentukan edema dan pembentukan edema maksimal terjadi setelah 2–3 jam (Winter, 1964).

#### **I. Penentuan Aktivitas Antiinflamasi**

Model eksperimen inflamasi digunakan untuk menyelidiki mekanisme proses inflamasi dan mengevaluasi daya antiinflamasi senyawa kimia. Banyak model uji antiinflamasi *in vivo* telah diterapkan, beberapa model yang lazim digunakan antara lain: edema terinduksi pada telapak kaki tikus (*rat hind paw oedema*), eritema ultra violet dan artritis *adjuvant* (Swingle, 1974). Model eksperimental lainnya adalah: *skin testing* (tes kulit), *eksperimental pleurisy* (percobaan radang selaput dada), *six day air pouch* (injeksi udara selama enam hari), implantasi *spon polyester* (implantasi bunga karang poliester), dan *cotton pellet granuloma* (Sedgwick & Willoughby, 1989).

Teknik yang banyak digunakan dalam pengembangan obat antiinflamasi nonsteroid adalah mengukur kemampuannya menghambat

udema pada kaki tikus yang dihasilkan oleh bahan edemogen. Metode yang berdasarkan pada penghambatan udema terinduksi pada kaki tikus adalah yang paling populer. Prosedur umumnya adalah menyuntikkan sedikit suspensi atau larutan edemogen ke dalam jaringan plantar telapak kaki tikus sehingga menimbulkan pembengkakan.

Dibanding model lain, model udema pada telapak kaki tikus mempunyai banyak keuntungan seperti lebih mudah dan reproduibel, menggunakan satu kelompok tikus, waktu terbentuknya udema dapat diselidiki serta membutuhkan biaya relatif murah (Sedgwick & Willoughby, 1989). Bahan edemogen yang paling banyak digunakan adalah karagenin. Pembengkakan kaki tikus ditimbulkan dengan menggunakan 0,1 ml suspensi karagenin 1% (Van Arman, *et al.*, 1965). Penentuan aktivitas dilaksanakan dengan cara: memberikan obat yang diuji secara oral, 60 menit kemudian menyuntikkan suspensi karagenin 1% ke dalam jaringan plantar salah satu telapak kaki tikus dan segera menentukan ukuran volume kaki pada waktu ini ( $t = 0$ ). Kemudian pengukuran volume pembengkakan kaki tersebut dilakukan setiap jam setelah penyuntikan karagenin.

Pengembangan udema meliputi dua fase: fase pertama dimulai setelah penyuntikan karagenin meliputi pelepasan histamin, serotonin, dan kinin. Sedangkan fase kedua yang lebih lama, dimulai pada jam pertama dan bertahan sampai jam ketiga meliputi pelepasan prostaglandin dan SRS-A. Pra perlakuan tikus dengan obat antiinflamasi steroid dan non steroid menghambat fase kedua (Gryglewski, 1977).

## **J. Uji *In Silico***

### 1. *Molecular Docking*

Metode *in silico* merupakan salah satu metode penelitian secara komputasi yang menjadi subyek penelitian intensif selama dekade terakhir (Teodore, *et al.*, 2001). Metode tersebut dilakukan dengan penambatan molekul atau *molecular docking*. Tujuan penambatan molekul ini untuk mendapatkan konformasi yang optimal untuk protein dan ligan, sehingga dapat meminimalkan energi bebas dari sistem secara keseluruhan. Penambatan molekul membantu dalam mempelajari ligan atau interaksi reseptor dan protein dengan mengidentifikasi situs aktif yang cocok pada protein, menemukan posisi terbaik dari ligan-reseptor secara geometri dan mengkalkulasi energi interaksi dari ligan yang berbeda untuk mendapatkan ligan yang lebih efektif (Mukesh, 2011).

*Molecular docking* sering digunakan untuk memprediksi ikatan ligan terhadap target proteinnnya untuk memperkirakan afinitas dan aktivitas molekulnya sehingga *docking* berperan penting dalam desain obat yang rasional (Mukesh & Rakesh 2011). Dua tahapan dalam melakukan penambatan molekuler, yaitu validasi metode *docking* dan simulasi *docking* dengan ligan target. Tahap tersebut terdiri dari tahap preparasi ligan, preparasi reseptor, dan simulasi *docking*. Prinsip dari penambatan molekuler ini umumnya adalah untuk mengetahui ikatan suatu molekul (ligan) dengan suatu protein (reseptor) sehingga dapat digunakan untuk gambaran secara kasar untuk memprediksi aktivitas suatu molekul (ligan).



## 2. *AutoDockTools*

*AutoDockTools* merupakan salah satu aplikasi untuk penambatan molekuler yang bersifat nonkomersial. Salah satu keberhasilan penggunaan *AutoDockTools* dalam penelitian dan pengembangan obat adalah dalam penemuan obat raltegravir sebagai inhibitor HIV integrase (Norgan, *et al.*, 2011).

*AutoDockTools* merupakan program penambatan molekuler yang efektif, cepat dan akurat dalam memprediksi konformasi dan energi dari ikatan target dan ligan. Program utama Autodock terbagi dua yaitu *Autodock* dan *Autodock grid*. Autodock berfungsi melakukan penambatan molekuler protein target dan ligan dengan set grid yang telah ditetapkan. Untuk mencari informasi Autodock membutuhkan ruang atau area pencarian dalam sistem koordinat yang memprediksi posisi terikatnya ligan (Morris, *et al.*, 2012).

Hasil dari *AutoDockTools* berupa skor energi interaksi untuk menentukan konformasi yang baik maupun yang tidak baik. Skor *docking* tersebut diestimasi sebagai harga  $\Delta G$  atau *binding energy* yang memiliki satuan dalam kkal/mol. Konformasi yang baik diketahui dengan melihat hasil *docking* yang memiliki energi interaksi yang kecil pada ikatan antara ligan dan protein target (Morris, *et al.*, 2012).

## K. Landasan Teori

Inflamasi didefinisikan sebagai suatu respon protektif normal tubuh terhadap luka jaringan yang disebabkan oleh trauma fisik, zat kimia yang merusak, atau zat-zat mikrobiologik. Penggunaan obat-obat AINS (Antiinflamasi Non Steroid) efektif untuk pengobatan inflamasi akut, tetapi efek samping pada saluran cerna membuat obat ini kurang disukai.

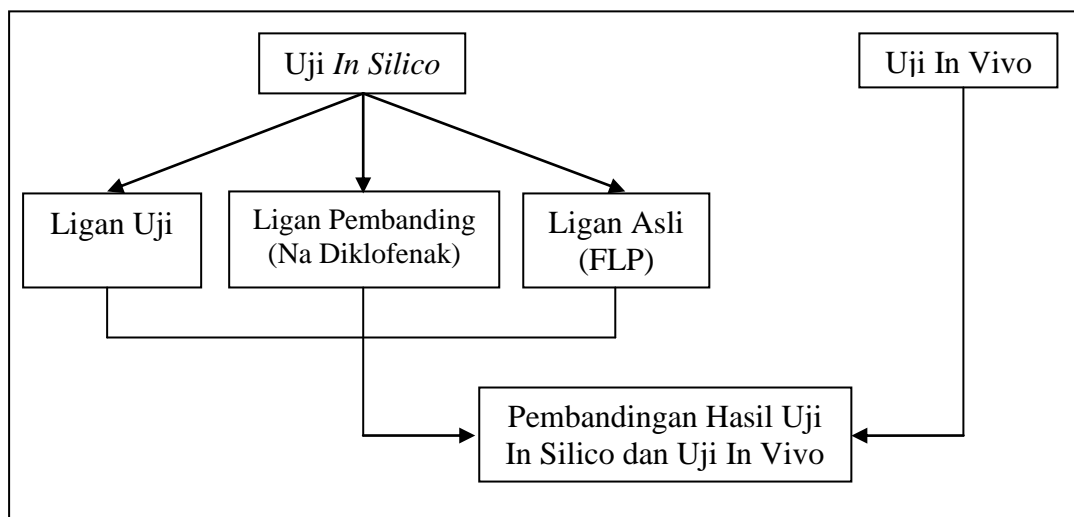
Pada umumnya pemanfaatan herbal tanaman lada (*Piper nigrum* L.) oleh masyarakat sebagai penambah stamina atau penyegar tubuh berdasarkan pengalaman empiris atau berdasarkan bau dan rasa dari bagian tanaman tersebut. Adapun kandungan senyawa yang terdapat pada lada antara lain piperin, piperonal, kariofilen dan amilum.

Pada penelitian sebelumnya, zat aktif *piperine* yang diisolasi dari lada juga diketahui memiliki efek antiinflamasi pada inflamasi akut maupun inflamasi kronik masing-masing melalui metode udem kaki tikus terinduksi karagenin. Mekanisme piperin tersebut sebagai antiinflamasi dapat menghambat prostaglandin yang merupakan mediator inflamasi. Upaya pengembangan senyawa obat bahan alam dari isolat alkaloid lada sebagai agen antiinflamasi untuk mengatasi radang bisa dilakukan dengan menggunakan metode *in vivo* dan *in silico* yang merupakan teknik baru pada penelitian ini dibanding penelitian sebelumnya.

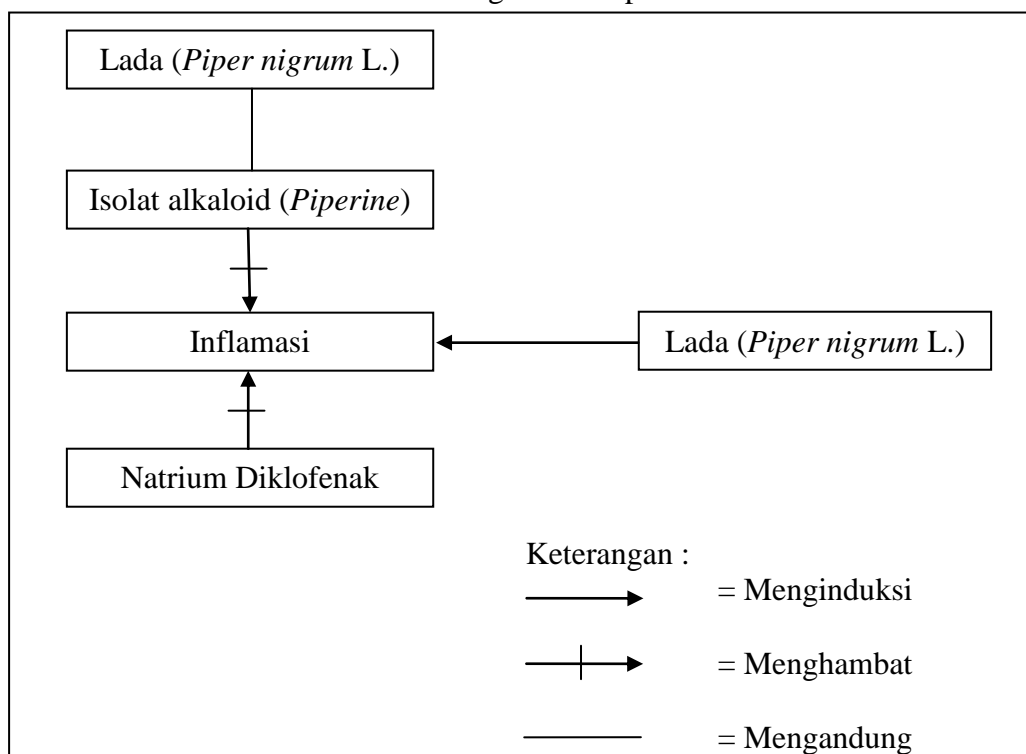
Dengan penambatan molekul atau *molecular docking* untuk mendapatkan konformasi yang optimal untuk protein (3PGH) dan ligan uji senyawa marker dari *Piper nigrum*, dapat membantu dalam mempelajari

ligan atau interaksi reseptor dan protein dengan mengidentifikasi situs aktif yang cocok pada protein untuk mendapatkan ligan yang lebih efektif sehingga *docking* berperan penting dalam desain obat yang rasional.

#### L. Kerangka Konsep



Gambar 8. Kerangka Konsep Keseluruhan



Gambar 9. Kerangka Konsep Uji In Vivo

## M. Hipotesis

Dari penelitian ini, dapat dirumuskan hipotesis bahwa:

1. Isolat alkaloid lada (*Piper nigrum* L.) mempunyai efek antiinflamasi terhadap edema kaki tikus putih jantan galur Wistar secara *in vivo* dan *in silico*.
2. Dosis efektif isolat alkaloid lada (*Piper nigrum* L.) sebagai antiinflamasi secara *in vivo* adalah dosis yang dapat menaikkan persen daya antiinflamasi pada tikus wistar model edema kaki dengan induksi karagenin.
3. Berdasarkan analisis *molecular docking*, senyawa aktif pada isolat alkaloid lada (*Piper nigrum* L.) berpotensi sebagai agen antiinflamasi.
4. Berdasarkan visualisasi senyawa marker yang memiliki afinitas terbaik sebagai agen antiinflamasi, terdapat asam amino yang diikat oleh senyawa tersebut.