

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Klasifikasi Tanaman

Lada di klasifikasikan sebagai berikut:

Divisi : Spermatophyta
Sub divisi : Angiospermae
Kelas : Dicotyledoneae
Bangsa : Piperales
Suku : Piperaceae
Marga : Piper
Jenis : *Piper nigrum* Linn.

Piper nigrum Linn. di Jawa dikenal dengan nama merica, sedangkan di Bengkulu dikenal dengan nama lada kecik, di Sasak dikenal dengan nama sahang, untuk masyarakat Makassar mengenal tumbuhan ini dengan nama marica (Aspan, 2008).

B. Morfologi Tanaman

Habitus berupa herba tahunan dan memanjat. Batang bulat, beruas, bercabang, mempunyai akar pelekat, berwarna hijau kotor. Daun tunggal, bulat telur, pangkal bentuk jantung, ujung runcing, tepi rata. Panjang daun 5-8 cm, 2-5 cm. Daun bertangkai, duduk berseling atau tersebar, bekas dudukan daun tampak jelas, pertulangan menyirip, hijau. Bunga majemuk, bentuk bulir, menggantung, panjang bulir 3,5-22 cm, kepala putik berjumlah dua sampai lima. Tangkai sari 0,5-1 mm, berwarna putih atau

hijau. Buah buni, bulat, saat masih muda berwarna hijau setelah tua berwarna merah. Biji bulat, berwarna putih kehitaman. Akar tunggang berwarna putih kotor (Aspan, 2008).

C. Deskripsi Tanaman

Lada secara botanikal di kenal sebagai *Piper nigrum* Linn., merupakan salah satu rempah yang paling tua dan populer di dunia. Pada masa prasejarah, lada hitam dibudidayakan secara luas di daerah tropis Asia Tenggara. Tanaman hijau ini tumbuh merambat sejak zaman dahulu di pesisir pantai Malabar, India (Fazaria, 2016).



Gambar 1. *Piper nigrum* Linn (Aspan, 2008).

Selain di India, lada hitam dibudidayakan secara luas di Indonesia, Malaysia, Brazil, Sri Lanka, Vietnam dan China. Tumbuh dengan cabang yang menjalar halus dengan tangkai yang bersambung dan menggembung pada bagian lipatan. Tanaman ini memiliki daun yang lebar, hijau berkilauan, dengan tangkai yang teratur berselang-seling, juga berbunga kecil putih, rapat, tak bertangkai, ramping berduri, dan dalam satu kumpulan terdapat sekitar 50. Sedangkan buahnya bulat, berdiameter sekitar 0,5-1,0 cm dan berbiji tunggal. Buah menjadi merah kekuningan

matang pada saat mengandung biji. Baunya sangat beraroma dan menusuk, rasanya pedas, menggigit dan sangat tajam (Fazaria, 2016).

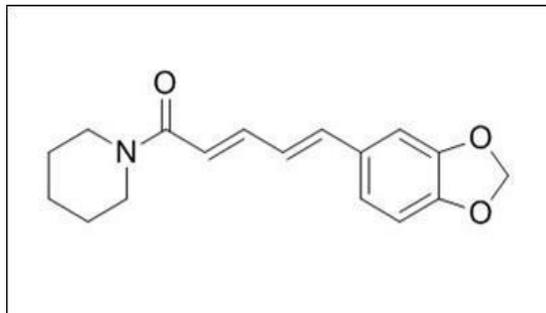
D. Kandungan Kimia

Piper nigrum Linn. dalam ekstrak aquoeous, ekstrak metanol dan ekstrak etanol positif mengandung karbohidrat, protein, tanin, fenol, kumarin, alkaloid dan antrakuinon. *Piper nigrum* Linn. mengandung minyak atsiri dan alkaloid dengan komponen felandren, dipenten, kariopilen, entoksilen, dan limonen (Depkes RI, 1980). *Piper nigrum* Linn. mengandung alkaloid, diantaranya piperin (5,3-9,25%), kavisin (sampai 1%) dan metil-pirolin, minyak atsiri (1,2-3,5%), lemak (6,5-7,5%), pati (36-37%) dan serat kasar ($\pm 14\%$) (Loo, 1987). Sebanyak 5-9% mengandung senyawa utama piperin, piperidin, piperetin, dan piperenin (Kadam *et al.*, 2013). Penelitian mengenai alkaloid mendapat perhatian khusus karena memberikan aktivitas yang menjanjikan seperti antiinflamasi, antibakteri, anti-asma, dll (Khusbhu *et al.*, 2011).

E. Piperin

Piperin adalah suatu alkaloid alami yang dapat diekstraksi dari buah lada dan buah lada panjang. Berasa pedas dan sudah banyak dipakai sebagai obat tradisional dan insektisida. Secara turun-temurun buah lada yang mengandung piperin ini sudah luas dimanfaatkan sebagai obat kolera, nyeri haid, rematik, salesma, air mani yang encer, dan impoten (Septiatin, 2008).

Piperin adalah alkaloid paling penting yang ditemukan dalam buah dan akar *Piper nigrum* Linn. (lada putih) dan *Piper longum* Linn. (lada panjang) yang merupakan suku *piperaceae* (Zheng *et al.*, 2016). Piperin juga ditemukan dalam buah cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl.) sebesar 4-6% (Zuchri, 2008). *Piper nigrum* Linn. sering disebut sebagai “Raja Rempah” yang sudah dieksploitasi di *Indian Systems of Medicine* untuk pengobatan penyakit gastrointestinal dan gangguan pernafasan (Gorgani *et al.*, 2017). Rasa pedas yang khas dan rasa menggigit pada lada menandakan bahwa terdapat kandungan piperin yang tinggi didalamnya. Piperin telah dimanfaatkan untuk banyak tujuan terapeutik di masa lalu dan diantisipasi untuk tetap demikian di masa depan (Rather, 2018). Piperin telah dilaporkan memiliki aktivitas farmakologi sebagai antiinflamasi, antikanker (Lu, 2012), immunosupressan, antimikobakteri (Philipova, 2017), dan aktivitas antiparasit (Samuel, 2016).



Gambar 2. Struktur senyawa piperin.

Rumus kimia piperin adalah $C_{17}H_{19}NO_3$. Struktur kimia piperin dapat dilihat pada gambar 2. Kristal piperin berwarna kuning, larut dalam eter, etanol, metanol, klorofom, sedikit larut dalam air (Kolhe, 2011).

Rentang titik lebur piperin adalah 128-130°C (Adosraku, 2013) sedangkan larutan piperin dalam etanol menyerap panjang gelombang maksimal pada 360 nm (Kolhe, 2011). Piperin adalah prisma berkerucut satu yang pada awalnya tidak berasa, lama-lama tajam, pedas menggigit, bila dihidrolisis dengan KOH akan menghasilkan kalium piperinat dan piperidin, bersifat netral pada kertas lakmus, sedikit larut dalam air (18°C 40 gram per liter air) dan tidak larut dalam petroleum eter. Satu gram larut dalam 15 ml alkohol, 1.7 ml klorofom, dan 36 ml eter, larut dalam benzene dan juga asam asetat (Sudarsono *et al.*, 1996).

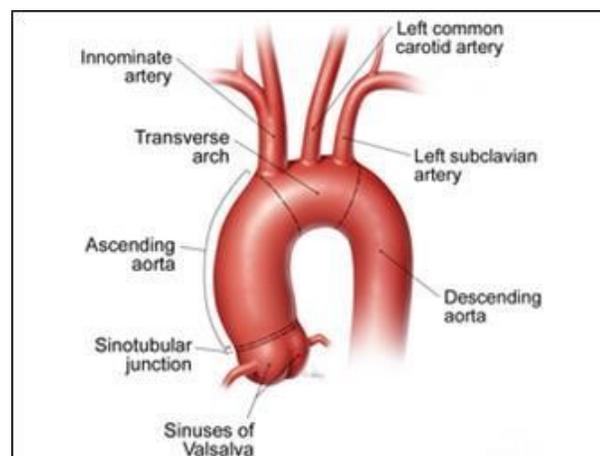
Piperin dilaporkan memiliki efek penghambatan terhadap biotransformasi obat dan energi mitokondria. Piperin menghambat banyak reaksi biotransformasi obat enzimatis (Srinivasan, 2007) dan memiliki implikasi penting terhadap aktivitas metabolik karsinogenik dan produksi energi mitokondria (Reanmongkol *et al.*, 1988).

Penelitian mengungkapkan bahwa piperin adalah salah satu *bioenhancer* yang dapat diisolasi dari *Piper nigrum* Linn. (Acharya *et al.*, 2012). Piperin meningkatkan bioavailabilitas dari obat-obatan Kurkumin (Shaikh *et al.*, 2009), Karbamazepin (Pattanaik, 2006), Atenolol (Singh, 2011), Fenitoin, Propanol, Teofilin, Sulfadiazin, Tetrasiklin (Bano *et al.*, 1991), Pirazinamid, Ciprofloxacin (Balakhrisnan, 2001), Nevirapin (Kasibhatta, 2007), Natrium Diklofenak (Pooja *et al.*, 2007), Ampicillin (Janakiraman, 2011), Ibuprofen (Venkatesh, 2011). Bioavailabilitas rifampisin meningkat sekitar 60% karena pengaruh piperin yaitu dari

450 mg hingga 200 mg rifampisin (Atal, 2010) Piperin dapat mengurangi dosis, mempercepat pengobatan, mengurangi resistensi obat dan toksisitas obat atau *adverse drug reaction*, sehingga pengobatan menjadi lebih *cost effective* (Lala *et al.*,2010).

F. Aorta

Pembuluh darah yang membawa darah dari ventrikel jantung (kiri) ke perifer disebut arteri. Aorta digolongkan sebagai arteri tipe elastik karena menjamin aliran darah secara simultan (Mutschler, 1991) dan membawa darah yang teroksigenasi ke pembuluh-pembuluh kapiler di seluruh tubuh (Carola, 1990). Aorta terletak memanjang mulai dari dada sampai ke daerah *perineal* sepanjang sumbu tulang belakang. Aorta keluar mulai dari ruang depan ventrikel kiri, naik sedikit ke atas (*ascending aorta*), membentuk suatu lengkungan (*arcus aorta*) kemudian turun ke bawah menuju *hiatus aorta* pada diafragma (*descending aorta*) (Abramason, 1962).



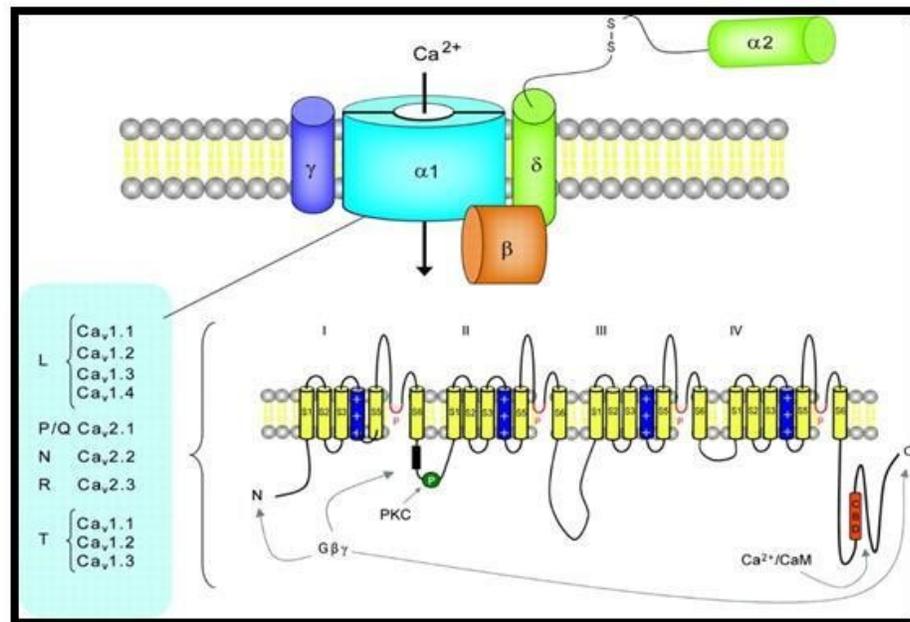
Gambar 3. Aorta (Carola, 1990).

Secara histologis, dinding aorta terdiri dari tiga lapisan, yaitu *intima*, *media*, dan *adventitia*. Lapisan *intima* terdiri dari atas susunan sel endotel yang dikelilingi oleh serabut kolagen dan serabut elastis, lapisan *media* terdiri atas jaringan ikat dan sel otot polos. Pada lapisan ini, terdapat jaringan elastis yang rapat, sehingga aorta mempunyai kemampuan yang besar untuk diregangkan (Carola, 1990). Lapisan terluar *adventitia* terdiri dari serabut elastis dan kolagen serta sedikit mengandung sel otot polos (Mutschler, 1991). Sebagai komponen dari sistem sirkulasi yang sangat berperan dalam mempertahankan tekanan darah makhluk hidup, aorta dilengkapi dengan reseptor yang distimulasi secara spesifik oleh neurotransmitter endogen dengan efek yang spesifik (Mutschler, 1991).

G. Kanal Ion Ca^{2+}

Kanal Ca^{2+} adalah kanal ion yang menunjukkan permeabilitas selektif pada ion Ca^{2+} . Kanal Ca^{2+} teraktivasi merupakan jalur utama masuknya ion Ca^{2+} ke dalam sel pada berbagai jenis tipe sel dan mengatur berbagai proses intraselular sel, seperti kontraksi, transkripsi gen, plastisitas sinaptik, dan pengeluaran hormon atau neurotransmitter. Kanal Ca^{2+} juga ditemukan pada otot jantung, otot polos, dan hampir semua jaringan eksitabel. Kanal Ca^{2+} merupakan kompleks protein yang tersusun oleh 4 atau 5 subunit yang berbeda, yang disandi oleh beberapa gen (Ikawati, 2014). Pada otot polos, untuk beraksi, Ca^{2+} harus berikatan dengan reseptornya, yaitu Calmodulin. Calmodulin tidak memiliki aktivitas enzim. Setelah berikatan dengan Ca^{2+} akan menjadi kompleks

Ca^{2+} /Calmodulin yang aktif dan mengikat protein lain. Kompleks tersebut mengaktifasi protein kinase yang tergantung Ca^{2+} /Calmodulin-*dependent protein kinase* (CaM-kinase). Salah satu CaM-kinase adalah *Myosin Light-Chain Kinase* (MLCK) yang berperan dalam kontraksi otot polos. MLCK akan mengaktifkan myosin, yang merupakan protein motorik yang akan berikatan dengan filamen aktin untuk menyebabkan kontraksi (Ikawati, 2014). Pada saat kanal Ca^{2+} dihambat oleh antagonis Ca^{2+} baik itu dihidropiridin maupun nondihidropiridin, menyebabkan tertutupnya kanal Ca^{2+} oleh penghambatan antagonis tersebut, sehingga keadaan Ca^{2+} intrasel akan berkurang, mengakibatkan efek inotropik negatif.



Gambar 4. Kanal Ca^{2+} (Catterall, 2003).

1. Klasifikasi Ca^{2+}

Penggolongan kanal Ca^{2+} didasarkan pada jenis arus Ca^{2+} . Arus Ca^{2+} yang dapat direkam pada tipe sel yang berbeda memiliki perbedaan dalam sifat fisiologis dan farmakologisnya. Arus Ca^{2+} dibedakan menjadi 5 jenis, yaitu (Ikawati, 2014) :

A. *N-type Ca^{2+} / Neuronal*

Kanal ini terekspresi utamanya pada sel saraf. Kanal ini diaktivasi oleh depolarisasi yang besar dan utamanya berperan dalam pelepasan neurotransmitter pada ujung saraf, menginisiasi transmisi saraf, dan memediasi masuknya Ca^{2+} ke dalam badan sel dan dendrit. Kanal tipe ini tidak dipengaruhi oleh obat antagonis Ca^{2+} tipe L, tetapi dapat diblok oleh toksin tertentu dari keong atau laba – laba.

B. *L-type Ca^{2+} / long open time*

Kanal ini diaktivasi oleh depolarisasi yang besar dan dapat tetap terbuka sampai agak lama sebelum kemudian inaktif (500 ms atau lebih). Kanal ini banyak dijumpai pada otot jantung, sel otot polos, dan endokrin. Berperan dalam inisiasi kontraksi dan sekresi serta dapat diblok oleh obat antagonis Ca^{2+} seperti dihidropiridin, fenilalkilamin, dan benzotiazepin.

C. *P-type Ca^{2+}*

Kanal ini memiliki sifat dan peran yang sama dengan kanal Ca^{2+} tipe N.

D. R-type Ca^{2+}

Informasi untuk kanal ini masih sangat sedikit. Hanya disebutkan memiliki kesamaan sifat dengan tipe N yang memerlukan depolarisasi yang kuat untuk aktivasinya.

E. T-type Ca^{2+} / tiny / transient current

Kanal ini dapat diaktivasi oleh depolarisasi yang kecil dan juga terjadi secara singkat. Karena itu, kanal ini disebut sebagai *Low Voltage – Activated (LVA) channel*.

Pada perkembangan berikutnya, seperti halnya kanal Na, penamaan kanal Ca^{2+} didasarkan pada nomenklatur yang diadopsi dari nomenklatur kanal K. Pada nomenklatur ini, hingga saat ini kanal Ca^{2+} dibedakan menjadi 10 isoform yang terbagi dalam tiga keluarga, yaitu Ca_v1 , Ca_v2 , dan Ca_v3 . Jenis kanal Ca^{2+} , macam arus, lokalisasi, antagonis spesifik, serta fungsi selulernya dapat dilihat pada tabel 1.

Secara farmakologi, sifat-sifat ketiga keluarga kanal Ca^{2+} sangat berbeda. Karena lokasinya yang banyak berada di otot jantung, kanal Ca^{2+} tipe Ca_v1 merupakan target molekuler dari obat pemblok kanal Ca^{2+} yang banyak digunakan dalam terapi penyakit kardiovaskuler. Keluarga Ca_v2 relatif tidak sensitif terhadap obat-obat golongan dihidropiridin, tetapi diblok secara spesifik oleh beberapa jenis toksin yang berasal dari siput laut dan keong. Keluarga kanal Ca_v3 atau *T-type* terlibat dalam beberapa jenis gangguan jantung dan

jenis epilepsi tertentu, khususnya epilepsi jenis *petit mal (absence seizure)* (Ikawati, 2014).

Tabel 1. Klasifikasi kanal ion Ca^{2+} (Catterall, 2003).

Jenis Kanal	Macam Arus	Lokalisasi	Antagonis Spesifik	Fungsi Seluler
Ca_v1.1	L	Otot rangka	Dihidropiridin, Fenilalkilamin, Benzotiazepin	Eksitasi dan kontraksi
Ca_v1.2	L	Otot jantung, sel endokrin, badan sel saraf dan dendrit proksimal	Dihidropiridin, Fenilalkilamin, Benzotiazepin	Eksitasi – kontraksi, pelepasan hormon, regulasi transkripsi, integritas sinaptik
Ca_v1.3	L	Sel endokrin, badan sel saraf dan dendrit	Dihidropiridin, Fenilalkilamin, Benzotiazepin	Pelepasan hormon, regulasi transkripsi, integritas sinaptik
Ca_v1.4	L	Retina	Belum Ada	Pelepasan neurotransmitter dari sel bipolar
Ca_v2.1	P/Q	Ujung saraf dan dendrit	Ω -Agatoksin IV A	Pelepasan neurotransmitter, masuknya Ca ke dendrit
Ca_v2.2	N	Ujung saraf dan dendrit	Ω -Conotoxin-GVIA	Pelepasan neurotransmitter, masuknya Ca ke dendrit
Ca_v2.3	R	Badan sel saraf dan dendrit	Snx – 482	<i>Repetitive firing</i>
Ca_v 3.1	T	Badan sel saraf, dendrit, dan sel otot jantung	Tidak Ada	Picuan denyut jantung, picuan saraf berulang
Ca_v 3.2	T	Badan sel saraf, dendrit, dan sel otot jantung	Tidak Ada	Picuan denyut jantung, picuan saraf berulang
Ca_v 3.3	T	Badan sel saraf dan dendrit	Tidak Ada	Picuan denyut jantung, picuan saraf berulang

H. Interaksi Obat dengan Reseptor

1. Obat Agonis dan Antagonis

Obat agonis berikatan dengan suatu cara untuk memacu reseptor secara langsung atau tidak langsung hingga memberikan efek. Pada beberapa reseptor, mekanisme yang terjadi melalui satu molekul yang berikatan pada reseptor sehingga memberikan efek langsung. Untuk reseptor lain harus berikatan dengan satu atau lebih molekul pasangan (*coupling molecule*) yang terpisah dengan molekul yang memberikan efek (Katzung, 2000).

Obat antagonis bekerja dengan cara menghambat reseptor berikatan dengan molekul lain. Misalnya, antihistamin bekerja dengan cara menyekat reseptor histamin sehingga tidak dapat berikatan dengan histamin atau agonis serupa yang dapat berikatan pada reseptor tersebut. Contoh lainnya, penyekat reseptor asetilkolin seperti atropin yang menghambat jalan masuk asetilkolin pada reseptornya. Zat-zat antagonis seperti ini mengurangi efek dari histamin maupun asetilkolin (Katzung, 2000).

2. Hubungan Konsentrasi Obat dengan Respon

Dalam pengontrolan sistem *in vitro*, hubungan antara konsentrasi obat dan efeknya dapat dijelaskan secara matematik. Hubungan antara konsentrasi dan efek obat dijelaskan oleh suatu kurva hiperbola dengan persamaan sebagai berikut :

$$E = \frac{(Emax) \times C}{C + EC_{50}} \dots\dots\dots (1)$$

Dalam persamaan 1, E merupakan efek yang dihasilkan pada konsentrasi C, E_{max} merupakan respon maksimal yang dihasilkan obat dan EC_{50} merupakan konsentrasi obat yang menghasilkan 50% efek maksimal. Nilai EC_{50} dapat digunakan untuk mencari parameter afinitas agonis terhadap reseptor (pD_2). Nilai pD_2 adalah minus logaritma dari EC_{50} . Semakin besar nilai pD_2 semakin besar afinitas agonis terhadap reseptor.

Dengan adanya suatu antagonis pada sistem, kurva hubungan konsentrasi agonis dengan respon akan berubah. Pada antagonis kompetitif, kurva akan bergeser ke kanan. Sedangkan pada antagonis nonkompetitif, kurva akan bergeser ke bawah (E_{max} turun). Untuk menentukan sifat kompetitif dari suatu antagonis dapat digunakan persamaan *Schild* yang berupa persamaan garis lurus, ditunjukkan dengan persamaan (2).

$$\text{Log} \left(\frac{A'}{A-1} \right) = \text{Log} [B] - \text{Log} KB \dots\dots\dots(2)$$

Keterangan :

(A'/A) : Rasio konsentrasi EC_{50} dengan pengaruh antagonis

[B] : konsentrasi antagonis

KB : konstanta disosiasi ekuilibrium

Persamaan tersebut merupakan suatu persamaan garis lurus dengan $Y = \log (A'/A - 1)$ dan $X = \log [B]$. Sifat kompetitif dari suatu antagonis dilihat dari *slope* pada sumbu X ($\text{Log} [B]$). Nilai *slope* suatu antagonis kompetitif adalah mendekati 1 (satu) (Jankovic *et al.*, 1999).

3. Ikatan yang terlibat pada interaksi Obat-Reseptor

Respon biologis merupakan akibat adanya interaksi molekul obat dengan gugus fungsional molekul reseptor. Interaksi ini dapat terjadi karena kekuatan ikatan kimia tertentu (Siswandono, 1995).

Pada umumnya ikatan obat-reseptor bersifat *reversible* sehingga obat segera meninggalkan reseptor bila kadar obat dalam cairan luar sel menurun. Untuk ini, ikatan yang terlibat pada interaksi obat-reseptor harus relatif lemah tetapi masih cukup kuat untuk berkompetisi dengan lain-lain ikatan dengan sisi kehilangan (Siswandono, 1995).

Pada interaksi obat dengan reseptor, senyawa dapat menggabungkan beberapa ikatan yang lemah, seperti ikatan hidrogen, ion, van der Waals sehingga total menghasilkan ikatan yang cukup stabil (Siswandono, 1995).

1. Ikatan Kovalen

Ikatan kovalen terbentuk bila ada dua atom saling menggunakan sepasang elektron secara bersama-sama. Ikatan kovalen merupakan ikatan kimia yang paling kuat dengan rata-rata 100 *kcal/mol*. Dengan kekuatan ikatan yang tinggi ini, pada suhu normal ikatan bersifat tak terpulihkan dan hanya dapat pecah bila ada pengaruh katalisator enzim tertentu. Ikatan obat-reseptor melalui ikatan kovalen menghasilkan kompleks yang cukup stabil (Siswandono, 1995).

2. Ikatan Hidrogen

Ikatan hidrogen adalah suatu ikatan antara atom H dengan atom lain yang bersifat elektronegatif dan mempunyai sepasang elektron bebas dengan oktet lengkap seperti O, N, dan F. kekuatan ikatan hidrogen bervariasi antara 1-7 *kcal/mol* (Siswandono, 1995). Karena ikatan hidrogen mudah pecah, ikatan tersebut memungkinkan terdisosiasinya kompleks obat-reseptor (Foye, 1995).

3. Ikatan Ion

Ikatan ion adalah ikatan yang dihasilkan oleh daya tarik menarik elektrostatis antara ion-ion yang muatannya berlawanan. Kekuatan tarik menarik akan semakin berkurang jika jarak antara ion semakin jauh dan pengurangan tersebut berbanding terbalik dengan jaraknya. Obat yang mengandung gugus kation potensial maupun anion potensial dapat membentuk ikatan ion dengan gugus-gugus reseptor atau protein yang muatannya berlawanan (Siswandono, 1995).

4. Ikatan Hidrofob

Kebanyakan molekul obat memiliki bagian nonpolar (gugus aril dan alkil). Gugus alkil yang mengandung molekul hidrokarbon tidak larut dalam air. Hal ini karena ketidakmampuannya membentuk ikatan hidrogen dengan molekul air. Sehingga molekul air menjadi lebih tersusun disekitar molekul hidrokarbon

membentuk antar muka pada tingkat molekul, yang dapat dibandingkan dengan perbatasan gas-cairan. Peningkatan struktur pelarut yang dihasilkan itu membuat tingkat penataan lebih sempurna dalam sistem tersebut dibandingkan dengan yang terdapat dalam air, sehingga mengakibatkan entropi menjadi hilang (Foye, 1995).

Bila struktur hidrokarbon molekul obat ini bergabung dengan struktur hidrokarbon reseptor, mereka akan “meremas” molekul air yang tersusun rapi diantara struktur tersebut. Karena air yang didesak tadi tidak lagi merupakan bagian daerah perbatasan, maka kompleks obat-reseptor tersebut kembali pada struktur yang kurang tersusun dan hasilnya adalah penambahan entropi. Perubahan ini cukup mengurangi energi bebas pada sistem tersebut. Penggabungan demikian disebut ikatan hidrofob (Nogrady, 1992).

Ikatan hidrofob demikian dapat menjadi penyebab sebagian besar penarikan banyak obat ke reseptor. Ikatan ini merupakan jenis ikatan *irreversible* yang memungkinkan pelepasan obat (Foye, 1995).

5. Ikatan van der waals

Ikatan van der waals merupakan kekuatan tarik menarik antar molekul atau atom yang tidak bermuatan (Siswandono, 1995). Ikatan van der waals terdapat diantara semua atom, bahkan atom gas mulia dan didasarkan atas keterpolaran-pengimbasan asimetri dalam awan elektron atom oleh inti atom tetangganya (Nogrady, 1992). Meskipun secara individu lemah, tetapi hasil penjumlahan ikatan van der waals merupakan faktor pengikat yang cukup bermakna (Siswandono, 1995).

I. Percobaan dengan Organ Terisolasi

Percobaan menggunakan organ terisolasi sangat penting untuk mengevaluasi aktivitas farmakologi dari obat dalam reseptor, kanal, dan enzim dari sebuah jaringan. Organ terisolasi dipasang pada *chamber* yang merupakan bagian dari *organ bath* dan dipertahankan agar tetap hidup selama beberapa jam, memungkinkan penelitian secara terperinci mengenai obat atau perlakuan yang diberikan pada jaringan melalui respon-respon fungsional.

Percobaan menggunakan organ terisolasi digunakan untuk menganalisa hubungan dosis-respon suatu senyawa obat. Walaupun beberapa metode tingkat molekuler telah tersedia untuk mempelajari respon seluler suatu obat, namun metode organ terisolasi masih dianggap sebagai metode yang baik untuk menelusuri aktivitas farmakologi suatu obat (Lullmann *et al.*, 2000).

Perubahan-perubahan yang terjadi pada tingkat jaringan atau organ karena pengaruh suatu senyawa kimia dapat dipelajari lebih mendalam dan akurat dengan cara mengisolasi suatu organ atau jaringan dari suatu sistem fisiologis. Sebagai contoh, senyawa vasokonstriktor dapat diukur aktivitasnya dengan menggunakan beberapa bagian pembuluh darah terisolasi, seperti *vena portal* atau *vena saphenous, mesentric, arteri coroner* dan *arteri basiler*. Organ atau bagian organ yang diisolasi akan mampu tetap bertahan hidup selama beberapa jam di luar tubuh jika organ dikondisikan tetap berada dalam lingkungan fisiologisnya, yaitu dengan cara pemberian cairan fisiologis dalam temperatur yang sesuai, asupan oksigen dan nutrien yang tepat dari luar. Rangsangan fisiologis dan farmakologis terhadap organ terisolasi selanjutnya dapat tercatat dengan menggunakan alat perekam yang tepat. Efek kontraksi pembuluh darah akan tercatat dengan mengkondisikan pembuluh darah dengan bantuan dua penjepit penahan sedemikian rupa dalam alat organ terisolasi dengan sedikit diberi tekanan (Lullmann *et al.*, 2000).

Percobaan dengan menggunakan organ terisolasi memiliki beberapa keuntungan, diantaranya adalah sebagai berikut (Lullmann *et al.*, 2000) :

1. Konsentrasi obat pada jaringan bisa diketahui dengan pasti.
2. Sistem obat terisolasi bersifat lebih sederhana, sehingga adanya kemudahan dalam mengamati hubungan rangsangan dan respon.

3. Jika dibandingkan dengan efek yang terjadi ketika menggunakan organisme utuh, metode organ terisolasi sangat memungkinkan untuk menghindari efek kompensasi yang akan mengurangi efek mencapai separuhnya.
4. Metode organ terisolasi mempunyai kemampuan untuk mengukur efek minimum sampai dengan efek intensitas maksimum. Hal ini tidak sepenuhnya dapat dilakukan ketika menggunakan organisme utuh, seperti efek kronotropik negatif dari suatu obat tidak bisa dilanjutkan sampai pada efek maksimumnya, karena akan mengakibatkan berhentinya denyut jantung (*cardiac arrest*) pada organisme hidup sehingga hal ini tidak bisa dilakukan.

Beberapa kelemahan percobaan dengan organ terisolasi (Lullmann, *et al.*, 2000; Niemeyer, 1972) :

1. Kerusakan jaringan selama pembedahan tidak dapat dihindarkan.
2. Hilangnya regulasi fisiologis dari fungsi organ terisolasi.
3. Lingkungan fisiologis buatan tidak sepenuhnya sama dengan cairan fisiologis dalam tubuh..
4. Tidak dapat digunakan pada penelitian yang membutuhkan waktu pengamatan yang relatif lama, sebagai contoh preparat paru-paru dalam alat organ terisolasi hanya mampu bertahan hidup selama 4 jam.

J. *Molecular docking*

Molecular docking adalah metode komputasi yang bertujuan untuk meniru peristiwa interaksi ligan dan protein target (Motiejunas, 2006). Di dalam penambatan molekul, molekul ligan ditambatkan pada situs aktif atau situs tambat dari suatu protein yang sedang diam (statik), dengan menyertakan molekul *co-factor* dan H₂O di dalamnya atau tidak. Dari sini, diperoleh data mengenai posisi dan orientasi ligan-ligan itu di dalam situs aktif atau situs tambat tersebut. Dari data ini, dapat disimpulkan gugus-gugus fungsional ligan yang penting untuk interaksinya, sehingga tidak boleh dihilangkan dan gugus-gugus fungsionalnya yang dapat ditingkatkan kekuatan interaksinya. Informasi ini menjadi petunjuk untuk modifikasi ligan tersebut. Dengan adanya petunjuk tersebut, modifikasi ligan dan uji *in vitro* turunan-turunannya dapat berlangsung secara efisien. Interaksi ligan dengan protein di atas terjadi hanya apabila terdapat kecocokan (*fit*) bentuk dan volume di antara molekul ligan dan situs aktif atau situs tambat protein tersebut (Motiejunas, 2006). Selain itu, gugus-gugus fungsional pada molekul ligan itu harus berada pada posisi yang memadai dari asam-asam amino yang menjadi pasangannya pada situs aktif atau situs tambat tersebut (Schneider, 2008). Kecocokan di antara molekul ligan dan situs aktif atau situs tambat proteinnya adalah demikian spesifik, bagaikan kecocokan lubang kunci dengan anak kuncinya (*lock and key*) (Motiejunas, 2006). Untuk menuju kecocokan ini, situs aktif atau situs tambat mendesak (menginduksi) perubahan konformasi ligan (Foloppe,

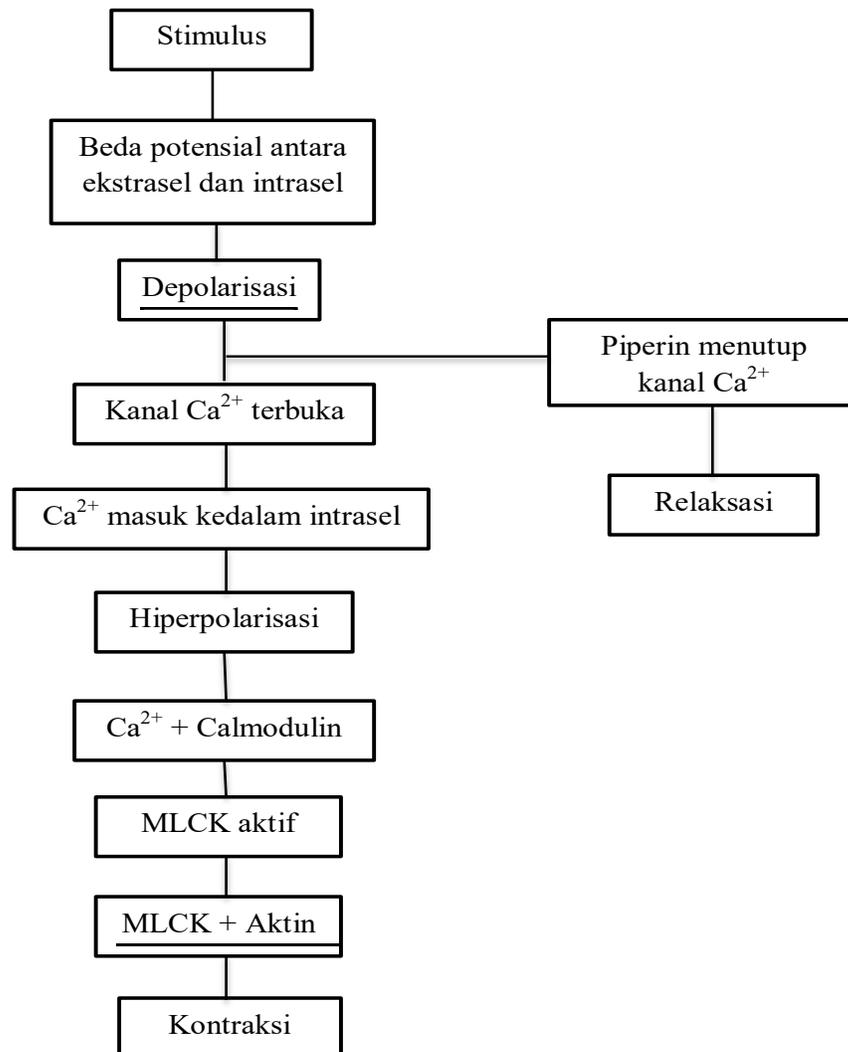
2009; Motiejunas, 2006). Pada saat kecocokan tercapai, maka konformasi yang dianut oleh molekul ligan dinamakan konformasi bioaktif (Schneider, 2008). Untuk rangkaian posisi gugus fungsional yang penting dari ligan pada konformasi bioaktif itu dinamakan farmakofor (Alvarez, 2005).

K. Landasan Teori

Piperin adalah alkaloid yang menyengat yang diisolasi dari spesies *Piper longum* L. dan *Piper nigrum* L.. Piperin belum dipelajari secara ekstensif untuk efek kardiovaskulernya, kecuali beberapa laporan pendahuluan. Piperin menunjukkan efek antihipertensi pada tikus tanpa menjelaskan mekanisme yang mendasarinya. Piperin telah ditemukan tanpa efek langsung pada jantung, walaupun menunjukkan efek kronotropik dan inotropik yang positif yang dimediasi melalui pelepasan peptida terkait kalsitonin dari saraf nonadrenergik dan noncholinergic pada atrium tikus yang diisolasi. Terlepas dari efek kardiovaskuler ini, banyak aktivitas biologis piperin yang beragam telah ditinjau ulang secara komprehensif baru-baru ini (McNamara, 2005).

Studi sebelumnya menunjukkan bahwa turunan piperidin melakukan tindakan langsung pada otot jantung, menunjukkan efek *cardiodepressant* (Taqvi, 2006). Berdasarkan penelitian tersebut, diduga piperin juga dapat menghambat kontraksi pada otot polos aorta marmut terisolasi dengan cara menginhibisi saluran kanal Ca^{2+} .

L. Kerangka Konsep



Gambar 5. Kerangka konsep.

M. Hipotesis dan Data Lain yang Ingin Diungkap

1. Hipotesis

Piperin dapat menjadi antagonis kanal Ca^{2+} pada otot polos aorta marmut terisolasi dan dosis optimal piperin yang dapat digunakan sebagai antagonis aorta marmut terisolasi yang diinduksi agonis Ca^{2+} adalah 10 dan 50 μM . Serta terdapat ikatan yang kuat antara ligan dan reseptor sehingga sehingga memberikan respon berdasarkan *docking score*.

2. Data Lain yang Ingin Diungkap

Pengaruh piperin terhadap aktivitas vasodilator otot polos aorta marmut terisolasi karena induksi agonis kanal Ca^{2+} dan dosis optimal piperin yang dapat memberikan aktivitas antagonisme, serta *score* dan profil ikatan piperin pada reseptor yang diduduki secara molekuler melalui *molecular docking*.