

UJI AKTIVITAS VASODILATOR PIPERIN (SENYAWA AKTIF *Piper nigrum* LINN.) DENGAN TARGET ANTAGONISME PADA KANAL Ca^{2+} OTOT POLOS AORTA MARMUT (*Cavia porcellus*) TERISOLASI : STUDI *IN VITRO* DAN *IN SILICO*

ACTIVITY TEST OF PIPERINE AS VASODILATORS (ACTIVE COMPOUND OF *Piper nigrum* LINN.) WITH ANTAGONISM TARGET IN Ca^{2+} CHANNEL ISOLATED GUINEA PIG (*Cavia porcellus*) AORTIC SMOOTH MUSCLES : IN VITRO AND IN SILICO STUDIES

Ananta Marabet¹, Puguh Novi Arsito²

¹Undergraduate Programme, School of Pharmacy, Faculty of Medicine and Health Sciences, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta, Jalan Lingkar Selatan, Yogyakarta 55183, Indonesia

²Lecturer, School of Pharmacy, Faculty of Medicine and Health Sciences, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta, Jalan Lingkar Selatan, Yogyakarta 55183, Indonesia

*email: nantamd@yahoo.com

INTISARI

Piperin adalah suatu alkaloid alami yang dapat diisolasi dari buah lada (*Piper nigrum* Linn.). Pengujian secara *in vivo* menunjukkan bahwa piperin mempunyai aktivitas farmakologi terhadap penyakit tukak lambung, antitumor, antihipertensi dan berfungsi sebagai imunomodulator. Sejauh ini penelitian secara *in vitro* dan *in silico* belum banyak dilakukan untuk mengungkap mekanisme kerja piperin tersebut. Salah satu target antihipertensi adalah pada kanal Ca^{2+} . Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek antagonisme piperin pada kanal Ca^{2+} , berikut dianalisis kesesuaian pola ikatannya terhadap reseptor dengan uji *in silico*. Efek relaksasi piperin pada kanal Ca^{2+} pada kontraksi otot polos aorta dapat digunakan sebagai terapi hipertensi.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris secara *in vitro* dan *in silico*. Penelitian ini menggunakan metode *in vitro* organ terisolasi diikuti dengan metode *in silico* menggunakan *software* Autodock Vina[®]. Adapun protein kanal Ca^{2+} yang digunakan memiliki kode (PDB ID : 4MS2) dengan ligan uji piperin dan ligan pembanding *nicardipine*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa piperin dosis 10 μ M dan 50 μ M mampu menggeser kurva persentase respon kontraksi terhadap pemberian seri kadar Ca^{2+}

secara signifikan. Nilai E_{max} kelompok piperin dosis 10 μM dan 50 μM , kelompok *nicardipine* dosis 10 μM dan 50 μM secara berturut-turut adalah 72,18%, 75,19%, 73,48% dan 71,79% . Sedangkan nilai pD_2 kelompok piperin dosis 10 μM dan 50 μM , dan kelompok *nicardipine* dosis 10 μM dan 50 μM secara berturut-turut adalah 6,71, 6,81, 6,66, 7,10. Dari hasil analisis statistik *one way ANOVA* ($p < 0,05$), diketahui bahwa pD_2 tersebut berbeda signifikan. Pada analisis *molecular docking* terhadap Ca^{2+} Channel, nilai afinitas piperin hasil *molecular docking* terhadap kanal Ca^{2+} adalah sebesar -7,1 *kcal/mol* sedangkan nilai *nicardipine* adalah sebesar -7,2 *kcal/mol*. Piperin bersifat antagonis nonkompetitif pada penelitian ini.

Kata Kunci : *In Silico*, *In Vitro*, Piperin, *Piper nigrum* Linn., Ca^{2+} Channel, Organ Bath

ABSTRACT

Piperine is a natural alkaloids that can be isolated from pepper (Piper nigrum Linn.). The in vivo test has showed that piperine has pharmacological activity against gastric ulcer disease, antitumor, antihypertensive and an immunomodulator. This far, the in vitro and in silico research have not been done much to reveal the mechanism of the piperine. One of the antihypertensive targets is the Ca^{2+} channel. This research aims to determine the antagonism effect of piperine on the Ca^{2+} channel, below analyzed the suitability of the bond pattern to the receptor with the in silico test. The relaxant effect of piperine in the Ca^{2+} channel in contracting aortic smooth muscle can be used as a therapy for hypertension.

This research is a combination of in vitro and in silico laboratory experimental research. This study used an in vitro method of isolated organs followed with the in silico method using the Autodock Vina[®] software. As for protein Ca^{2+} channels used have a code (PDB ID : 4MS2) with piperine as test ligands and nicardipine as comparison ligands.

The results have showed that piperine doses 10 μM and 50 μM were able to shift the percentage curve of the contraction response to the administration of Ca^{2+} levels significantly. The E_{max} value of piperine group dose 10 μM and 50 μM , nicardipine group dose 10 μM and 50 μM respectively were 72,18%, 75,19%, 73,48% and 71,79%. While the pD_2 value of the piperine group was 10 μM and 50 μM , and the nicardipine group dose 10 μM and 50 μM respectively 6,71, 6,81, 6,66, 7,10. From the results of the one way ANOVA statistical analysis ($p < 0,05$), it is

known that the pD2 is significantly different. In molecular docking analysis against Ca²⁺ channel, piperine affinity value from molecular docking on Ca²⁺ channels is -7,1 kcal/mol while the nicardipine value is -7,2 kcal/mol. Piperine is a noncompetitive antagonist in this study.

Keywords: *In Silico, In Vitro, Piperin, Piper nigrum Linn., Ca²⁺ Channel, Organ Bath*

PENDAHULUAN

Piperin adalah suatu alkaloid alami yang dapat diekstraksi dari buah lada dan buah lada panjang. Studi tentang piperin melaporkan bahwa piperin memiliki efek sebagai imunomodulator, antikarsinogenik, antiasma, hepatoprotektif, antiinflamasi (Darshan, 2004), antimikroba (Yang *et al.*, 2002), dan aktivitas antiulkus (Bai, 2000). Dalam pengobatan Ayuverda India kuno, lada digunakan untuk mengontrol diabetes, dan menstimulasi SSP, sebagai antispasmodik, pemurni darah, *tonic digestive*, aprodisiak dan antipiretik (Meghwal, 2013).

Penelitian Taqvi (2008) melaporkan bahwa piperin mempunyai aktivitas sebagai antihipertensi. Hasil penelitian Parodi (2006), menunjukkan bahwa piperin mempunyai efek antihipertensi dalam pemberian oral. Namun, piperin dalam konsentrasi yang lebih tinggi menyebabkan peningkatan produksi radikal hidroksil sedangkan pada konsentrasi rendah bertindak sebagai antioksidan (Mittal, 2000).

Dalam usaha untuk mengetahui efektivitas piperin sebagai antihipertensi maka dilakukan uji farmakologi *in vitro* dan *in silico*. Percobaan organ terisolasi dilakukan terutama untuk mengetahui efek pada relaksasi vaskuler, selektivitas untuk reseptor-reseptor vaskuler, efek pada otot-otot polos lain dengan menggunakan hewan uji tikus atau marmut (Katzung, 1997).

Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menguji aktivitas vasodilator piperin pada otot polos aorta marmut terisolasi. Atas pertimbangan di atas dan bahwa sampai saat ini penelitian uji aktivitas vasodilator piperin dengan target antagonisme pada kanal Ca²⁺ pada otot polos aorta marmut terisolasi belum pernah dilakukan, maka perlu dilakukan penelitian tentang aktivitas vasodilator piperin dengan target antagonisme pada kanal Ca²⁺ pada otot polos aorta marmut terisolasi. Data dan informasi yang didapatkan dapat digunakan sebagai referensi pada penelitian selanjutnya dan diharapkan akan diperoleh suatu acuan untuk mengetahui efek yang mungkin timbul

dari pemberian piperin pada kardiovaskuler.

Pada penelitian ini dilakukan uji farmakodinamik. Uji farmakodinamik dilakukan secara *in vitro* menggunakan *organ bath* dan *in silico* menggunakan metode *molecular docking* dengan Autodock Vina[®].

METODE PENELITIAN

Alat : alat yang digunakan meliputi Thermostat tipe 1419 (B. Brawn, W. Germany[®]), Isotonic Transducer (Ugo Basille[®]), Recorder (Ugo Basille[®]) dua set Organ Bath (Ugo Basille[®]) volume 20 mL, Bridge Amplifier tipe 336 (Ugo Basille[®]), Micro pipet 100 μ L, 1000 μ L dan 5000 μ L (Socorex[®]), satu set peralatan fiksasi, Vortex (CAT. M. Zippear GmbH. Etzenbach[®], W. Germany), pengaduk magnet thermostat (Cimarec[®]), Timbangan analitik (Mettler Toledo[®]) dan alat-alat gelas (Pyrex[®]).

Bahan : Isolat piperin, *free ca²⁺ buffer krebs*, Gas Karbogen (*mixed* 95% O₂ dan 5% CO₂) (PT. Aneka Gas dan Industri Semarang cabang Yogyakarta), Aqua destilata (Bratacho[®]), Agonis Ca²⁺, Dimetil sulfoksida (DMSO), *Nicardipine Inj.* (PT. Bernofarm[®]).

PROSEDUR KERJA DAN ALUR PENELITIAN

Uji *In Silico*

Uji in silico dilakukan dengan menggunakan metode *molecular docking* Autodock Vina[®]. Metode ini memprediksikan ikatan antara ligan dan reseptor dilihat dari beberapa parameter, yaitu *Gibbs free energy* ($-\Delta G$ (kcal/mol)), hasil interaksi antara ligan dengan reseptor, jarak dan residu antara asam amino yang terdekat dengan ligan ($< 2.00\text{\AA}$) (Adelin, 2013). Protein yang dipilih berdasarkan model Ca²⁺ channel teoritis manusia (Ca_v1.2), dari bakteri *Arcobacter butzleri* (PDB ID : 4MS2).

Penyiapan *free ca²⁺ buffer krebs*

Larutan *free Ca²⁺ buffer krebs* terdiri atas dua macam formula. Formula A berisi NaCl 68,70 g/L, KCl 4,20 g/L, MgSO₄.7H₂O 2,90 g/L, NaH₂PO₄.2H₂O 2,00 g/L. Larutan B berisi NaHCO₃ 21,00 g/L. Formula A masing-masing ditimbang lalu dilarutkan dengan aquades hingga volume 1 L, kemudian formula B ditimbang lalu dilarutkan dengan aquades hingga volume 1 L. Untuk membuat larutan *free Ca²⁺ buffer krebs* dicampurkan formula A dan formula B masing-masing 100 mL, glukosa 1,00 gram kemudian ditambahkan dengan aquades sampai satu liter pada saat akan digunakan.

Penyiapan Larutan Senyawa Piperin

Larutan stok dibuat dalam konsentrasi 2×10^{-2} M. untuk membuat

larutan tersebut, piperin ditimbang seksama seberat 28,534 mg dan dilarutkan ke dalam 5,0 mL DMSO. Selanjutnya larutan senyawa piperin 2×10^{-2} M diencerkan menggunakan DMSO hingga diperoleh konsentrasi 2×10^{-3} M. Larutan 2×10^{-3} M ditambahkan sebanyak 100 dan 500 μ L ke dalam *organ bath* yang telah berisi organ aorta marmut terisolasi dan larutan *free Ca²⁺ buffer krebs* 20,0 mL untuk mencapai senyawa piperin konsentrasi 10 μ M dan 50 μ M.

Penyiapan Seri Ca²⁺

Larutan Ca²⁺ dibuat sebagai larutan stok Ca²⁺ konsentrasi 2×10^{-1} M dalam aquades. Ca²⁺ memiliki bobot molekul 147.01 g/mol. Pengenceran larutan stok Ca²⁺ dilakukan dengan cara pengenceran bertingkat dari larutan stok Ca²⁺ 2×10^{-1} M sehingga diperoleh larutan Ca²⁺ konsentrasi 2×10^{-2} ; 2×10^{-3} ; 2×10^{-4} ; dan 2×10^{-5} , 2×10^{-6} , 2×10^{-7} , 2×10^{-8} .

Penyiapan Nicardipine

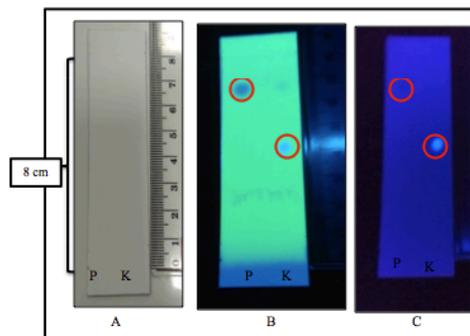
Larutan stok *nicardipine* (BM : 479.525 g/mol) dibuat pada konsentrasi 2×10^{-3} M. Sediaan yang tersedia adalah 1 mg/mL dengan total 10 mL sediaan injeksi. Sebanyak 9.6 ml *nicardipine* dilarutkan dalam WFI hingga 10 mL. Larutan dengan konsentrasi 10^{-5} M (10 μ M) didapatkan dengan mengambil larutan *nicardipine* 2×10^{-3} M sebanyak 100 μ L kemudian dimasukkan ke dalam *organ bath* yang berisi 20 mL larutan *free Ca²⁺ buffer krebs*. Larutan dengan konsentrasi 5×10^{-5} M (50 μ M) didapatkan dengan mengambil larutan *nicardipine* 2×10^{-3} M sebanyak 500 μ L

kemudian dimasukkan ke dalam *organ bath* yang berisi 20 mL larutan *free Ca²⁺ buffer krebs*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Identifikasi Piperin Dengan Menggunakan Metode KLT

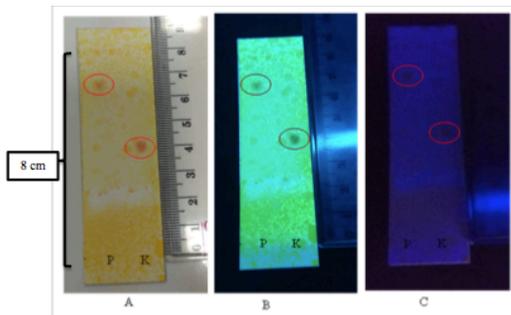
Hasil yang diperoleh adalah nilai bercak piperin berada di atas ($R_f = 0,78$) sedangkan pembandingnya kinin sulfat ($R_f = 0,50$) berada pada tengah jalur elusidasi. Nilai R_f yang semakin tinggi menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki sifat kepolaran yang rendah, begitu juga sebaliknya. Hal ini dikarenakan fase diam yang digunakan bersifat polar (Gandjar, 2007).



Gambar 1. Uji identifikasi KLT senyawa piperin sebelum disemprot *dragendorff*. Keterangan: (A) sinar tampak, (B) sinar UV 254, (C) sinar UV 366, (P) piperin ($R_f=0,78$), (K) sebagai pembanding kinin sulfat ($R_f=0,50$).

Deteksi alkaloid selanjutnya dilakukan melalui penampakan bercak menggunakan menggunakan pereaksi *dragendorff*. Hasil yang didapat menunjukkan adanya perubahan warna menjadi bercak jingga pada senyawa piperin (P),

begitu juga pada larutan kinin sulfat (K) yang berfungsi sebagai pembanding. Uji dengan menggunakan pereaksi *dragendorff* memberikan hasil positif apabila terbentuk endapan berwarna coklat muda hingga kuning (jingga) (Marliana *et al.*, 2005).



Gambar 2. Uji identifikasi KLT senyawa piperin setelah disemprot *dragendorff*. Keterangan: (A) sinar tampak, (B) sinar UV 254, (C) sinar UV 366, (P) piperin ($R_f=0,78$), (K) sebagai pembanding kinin sulfat ($R_f=0,50$).

Hasil uji dengan menggunakan pereaksi *dragendorff*, pada gugus nitrogen akan berikatan dengan K^+ yang merupakan ion logam akan membentuk ikatan kovalen sehingga akan membentuk warna coklat hingga kuning (jingga) (Marliana *et al.*, 2005), sedangkan pada plat KLT terbentuk warna jingga hingga coklat.

Uji *In vitro* Aktivitas Senyawa Piperin dalam *Piper nigrum* L.

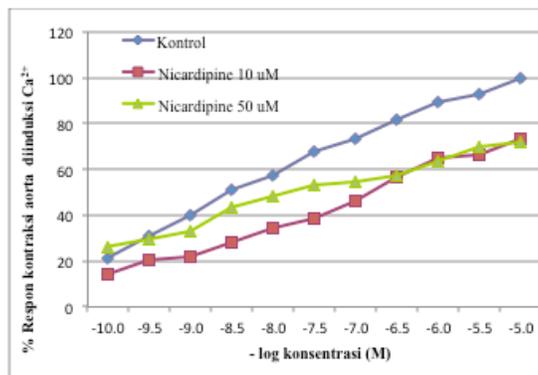
Ca^{2+} merupakan *second messenger* yang banyak digunakan pada berbagai fungsi sel. Konsentrasi Ca^{2+} dalam sitosol sangat kecil (10-20 nM), sedangkan pada ekstrasel sebesar

1-2 mM. Pembukaan kanal Ca^{2+} menyebabkan naiknya kadar Ca^{2+} intraseluler sampai 100 μM , yang dapat memicu berbagai proses seluler, seperti peristiwa kontraksi otot, pelepasan neurotransmitter dari sel saraf, dan eksositosis pada sel sekretori. 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).

Uji Pembanding Menggunakan *Nicardipine* (Kontrol Positif)

Nicardipine merupakan Ca^{2+} *channel blocker* golongan dihidropiridin yang menimbulkan efek vasodilatasi pembuluh darah. Dihidropiridin umumnya tidak menurunkan konduksi nodus atrioventrikular (Dipiro, 2008). Tujuan dilakukannya uji *nicardipine* sebagai pembanding adalah untuk mengetahui

perbandingan aktivitas piperin dengan *nicardipine*. Selain itu digunakan sebagai validasi penelitian, jika uji *nicardipine* telah terbukti valid memiliki aktivitas antagonisme Ca^{2+} channel.



Gambar 3. Kurva hubungan logaritma konsentrasi Ca^{2+} terhadap % respon kontraksi otot polos aorta marmut terisolasi, dengan pascaperlakuan *nicardipine* 10 dan 50 μM . Presentase respon 100% diukur berdasarkan kontraksi maksimal yang dicapai oleh seri konsentrasi Ca^{2+} .

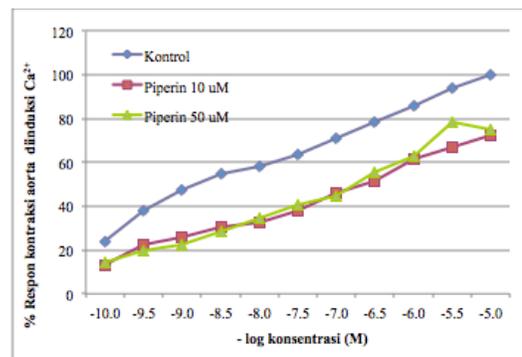
Hasil uji pascaperlakuan *nicardipine* dosis 10 dan 50 μM menunjukkan efek relaksasi dengan penurunan kurva dan terjadi penurunan nilai pD_2 . Profil kurva menunjukkan adanya pergeseran menurun kurva hubungan seri konsentrasi Ca^{2+} terhadap rata-rata % respon kontraksi otot polos aorta terisolasi. Nilai rata-rata pD_2 Ca^{2+} untuk perlakuan kontrol, *nicardipine* konsentrasi 10 μM dan 50 μM berturut-turut adalah 8,64, 6,66, dan 7,10. Penurunan nilai pD_2 Ca^{2+} pada pemberian *nicardipine* 10 dan 50

μM bermakna secara statistik ($p < 0,05$).

Antagonis nonkompetitif memiliki sifat tak terbalikkan (*irreversible*) dengan ditunjukkan pada nilai *E_{max}* yang tidak mencapai 100% pada pascaperlakuan *nicardipine*. Pascaperlakuan aorta dengan *nicardipine* konsentrasi 10 μM hanya dapat mencapai *E_{max}* 73,48% dan pada pemberian *nicardipine* konsentrasi 50 μM mencapai *E_{max}* 71,79%.

Pengaruh Piperin Terhadap Ca^{2+} Channel Otot Polos Aorta

Piperin diduga memiliki aktivitas antagonisme pada Ca^{2+} channel. Dugaan tersebut diukur dengan membandingkan nilai pD_2 Ca^{2+} dengan pascaperlakuan piperin dan praperlakuan piperin.



Gambar 4. Kurva hubungan logaritma konsentrasi Ca^{2+} terhadap % respon kontraksi otot polos aorta marmut terisolasi, pascaperlakuan piperin 10 dan 50 μM . Presentase respon 100% diukur berdasarkan kontraksi maksimal yang dicapai oleh seri konsentrasi Ca^{2+} .

Terjadi aktivitas relaksasi pada aorta marmut terisolasi yang diinduksi oleh seri Ca^{2+} eksogen akibat pascaperlakuan piperin dosis 10 dan 50 μM . Efek relaksasi ditunjukkan dengan pergeseran grafik ke bawah dan dengan penurunan nilai pD2. Pergeseran kurva mengindikasikan adanya penurunan kemampuan Ca^{2+} dalam mengkontraksi aorta marmut terisolasi akibat pascaperlakuan piperin dosis 10 dan 50 μM , keadaan tersebut ditandai dengan penurunan nilai pD2 dari Ca^{2+} . Nilai pD2 Ca^{2+} sebagai kontrol, pascaperlakuan 10 dan 50 μM secara berturut-turut adalah 8,27, 6,71, dan 6,81. Penurunan nilai pD2 Ca^{2+} pada pemberian piperin 10 dan 50 μM bermakna secara statistik ($p < 0,05$).

Ca^{2+} memiliki aktivitas memicu kontraksi setelah berikatan dengan Ca^{2+} channel pada otot polos aorta. Pemberian seri konsentrasi bertingkat Ca^{2+} eksogen menunjukkan peningkatan % respon kontraksi otot polos aorta terisolasi. Respon kontraksi maksimal (100%) otot polos aorta tercapai pada pemberian Ca^{2+} eksogen dengan konsentrasi 1×10^{-5} .

Antagonis nonkompetitif memiliki sifat tak terbalikkan (*irreversible*) dengan ditunjukkan pada nilai *Emax* yang tidak mencapai 100% pada pascaperlakuan piperin. Pascaperlakuan aorta dengan piperin 10 μM hanya dapat mencapai *Emax* 72,18% dan pada pemberian piperin 50 μM mencapai *Emax* 75,19%. Antagonis nonkompetitif merupakan suatu antagonis yang mampu mengurangi efektifitas suatu agonis dengan mekanisme berikatan pada

tempat yang tidak diduduki oleh agonis. Penambahan konsentrasi agonis pada antagonis ini tidak akan mampu menggeser dan mengatasi efek yang ditimbulkan oleh antagonis tersebut yang mengakibatkan nilai *Emax* tidak dapat mencapai 100%.

No.	Kelompok Perlakuan	pD2	<i>Emax</i> (%)
1.	Kontrol Ca^{2+}	8.27 ± 0.19	100.00 ± 0.00
2.	Piperin 10 μM	6.71 ± 0.09*	72.18 ± 1.12
3.	Piperin 50 μM	6.81 ± 0.21*	75.19 ± 1.80

No.	Kelompok Perlakuan	pD2	<i>Emax</i> (%)
1.	Kontrol Ca^{2+}	8.64 ± 0.27	100.00 ± 0.00
2.	<i>Nicardipine</i> 10 μM	6.66 ± 0.14*	73.48 ± 2.50
3.	<i>Nicardipine</i> 50 μM	7.10 ± 0.21*	71.79 ± 2.42

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 pD2 Ca^{2+} (*).

Uji *In Silico* Piperin Pada Ca^{2+} Channel

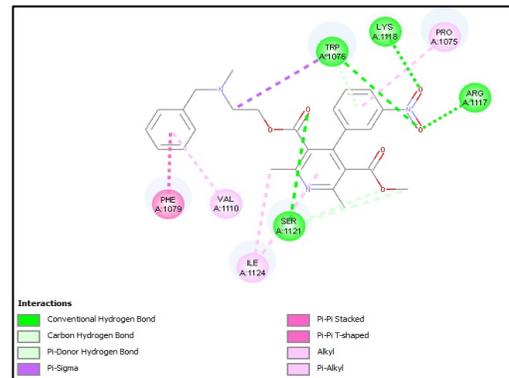
Validasi metode *molecular docking* dengan Autodock Vina[®] dilakukan untuk mengkalibrasi metode *docking* pada *software* yang digunakan, pada proses validasi ini dibandingkan antara posisi *native ligand* terhadap reseptor yang telah diuji secara eksperimental pada *binding site pocket* ligan. Metode yang digunakan dikatakan valid jika harga RMSD $< 2.00 \text{ \AA}$, artinya posisi ligan *copy* setelah *superimpose* semakin dekat posisinya menduduki *native ligand* sehingga metode yang

digunakan akan lebih tepat. Nilai RMSD dipengaruhi juga oleh resolusi protein reseptor dan metode pemodelan reseptor yang digunakan (Puspanigtiyas, 2013). *Native ligand* yang digunakan pada penelitian ini adalah *1,2-Dimyristoyl-Sn-Glycero-3-Phosphocholine* (ID: PX4).

Hasil dari *molecular docking* Autodock Vina[®] yaitu prediksi aktivitas interaksi antara ligan dengan reseptor berupa energi ikatan antara ligan dengan reseptor. Parameter yang diamati adalah *Gibbs free energy* ($-\Delta G$ (kcal/mol)), hasil interaksi antara ligan dengan reseptor, jarak dan residu antara asam amino yang terdekat dengan ligan ($< 2.00\text{\AA}$) (Adelin, 2013). Aktivitas piperin terhadap Ca^{2+} channel dapat diprediksi melalui *molecular docking* Autodock Vina[®]. Protein yang dipilih berdasarkan model Ca^{2+} channel teoritis manusia ($\text{Ca}_v1.2$), dari bakteri *Arcobacter butzleri* (PDB ID : 4MS2). Piperin dilaporkan memberikan efek *cardiodepressant* dan vasodilator yang memberikan dasar farmakologi untuk efek penurunan tekanan darah (Taqvi, 2008).

Nicardipine merupakan Ca^{2+} channel blocker golongan dihidropiridin yang merupakan *Voltage-Gated Calcium Channels* (VGCCs). *Nicardipine* merupakan *L-Type Voltage-Gated Calcium Channels* yang mengikat subunit $\text{Cav}1.2$ (Lin et

al., 2011). Pada hasil *molecular docking* Autodock Vina[®] yang telah dilakukan, diprediksi energi ikatan *nicardipine* terhadap Ca^{2+} channel sebesar $-7,2$ kcal/mol.

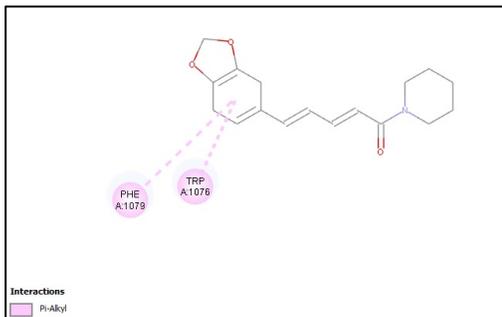


Gambar Hasil Visualisasi 2D *nicardipine* terhadap Ca^{2+} Channel menunjukkan asam amino yang berikatan dengan ligan beserta jenis ikatan yang terjadi.

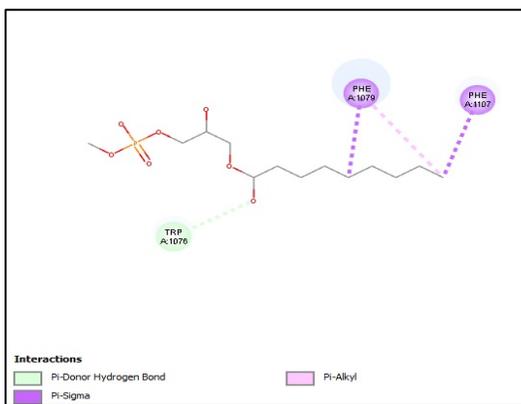
Binding site reseptor diketahui pada residu asam amino Phe1079 dan Trp1076 yang merupakan *binding site* Ca^{2+} Channel eksperimental. Menurut *Gibbs energy theory* (ΔG) apabila semakin kecil energi yang dihasilkan dari ikatan antara ligan dengan reseptornya, maka semakin stabil ikatan antara ligan dengan reseptor tersebut.

Diketahui hasil uji *in silico* aktivitas senyawa marker *Piper nigrum* Linn. yaitu piperin dengan senyawa pembanding yaitu *nicardipine* dan *native ligand* PX4 (*1,2-Dimyristoyl-Sn-Glycero-3-Phosphocholine*) protein 4MS2 memprediksikan bahwa piperin dan

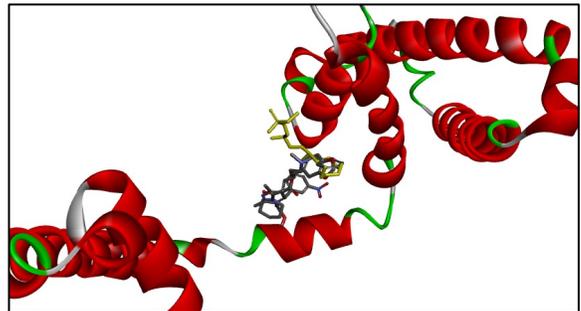
nicardipine mampu menghambat Ca^{2+} channel, hal ini dibuktikan dari *Gibbs free energy* ($-\Delta G$ (kcal/mol)) *nicardipine* (-7,2 kcal/mol) dan piperin (-7,1 kcal/mol) lebih kecil daripada *1,2-Dimyristoyl-Sn-Glycero-3-Phosphocholine* (-4,8 kcal/mmol).



Gambar Hasil Visualisasi 2D Piperin terhadap Ca^{2+} Channel menunjukkan asam amino yang berikatan dengan ligan beserta jenis ikatan yang terjadi.



Gambar. Hasil Visualisasi 2D native ligand terhadap Ca^{2+} Channel menunjukkan asam amino yang berikatan dengan ligan beserta jenis ikatan yang terjadi.



Gambar. Hasil visualisasi overlay antara native ligand, *nicardipine* dan *piperin*. Native ligand divisualisasikan dengan warna kuning

Visualisasi *overlay* antara piperin, *native ligand*, dan *nicardipine* menempati tempat yang sama di reseptor kanal Ca^{2+} dapat dilihat pada gambar 20. Hal ini membuktikan bahwa piperin memiliki efek sama seperti *nicardipine* dan *native ligand*.

KESIMPULAN

Piperin memiliki aktivitas antagonisme yang dibuktikan dari penurunan nilai pD₂. Dosis optimal piperin yang dapat digunakan sebagai antagonisme adalah 10 μM . Penurunan nilai pD₂ agonis Ca^{2+} pada dosis 10 dan 50 μM tidak berbeda signifikan. Uji *in silico* menunjukkan bahwa piperin memiliki aktivitas yang hampir sama seperti *nicardipine*, hal ini dibuktikan dari *docking score* piperin (-7,1 kcal/mol) dan *nicardipine* (-7,2 kcal/mol) dibandingkan dengan *native ligand* (-4,8 kcal/mol), artinya piperin dapat memblok Ca^{2+} Channel.

DAFTAR PUSTAKA

- Bai Y.F., Xu H., 2000, Protective Action Of Piperine Against Experimental Gastric Ulcer, *Actapharmacolsin* 21:357-359.
- Darshan S., Doreswamy R., 2004, Patented Antiinflammatory Plant Drug Development From Traditional Medicine, *Phytother res*, 18:343-357.
- Gandjar, I.G., Abdul Rohman, 2007, *Kimia Farmasi Analisis*, Pustaka Pelajar: Yogyakarta.
- Ikawati, Zullies. 2014. *Farmakologi Molekuler Target Aksi Obat dan Mekanisme Molekulernya*, Gadjah Mada University Press: Yogyakarta.
- Katzung, B.G., Anthony J.T., 1997, *Farmakologi Dasar dan Klinik : Prinsip Kerja Obat Antimikroba*. Penerbit Buku Kedokteran EGC: Jakarta.
- Marliana, Soerya Dewi., Venty, S., Suyono, 2005, Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule Jacq. Swartz.*) dalam Ekstrak Etanol, *Biofarmasi* 3(1): 26-31.
- Meghwal, Murlidhar, T.K. Goswami, 2013, Review Piper Nigrum And Piperine An Update, *Phytotherapy Research* 27:1121-1130.
- Mittal, R., Gupta R.L., 2000, In Vitro Antioxidant Activity Of Piperine, *Methods Find Exp. Clinical Pharmacology*, 22(5):271-274.
- Parodi, Federico E., Dongli Mao, Terri L.E., Monica B.P., Robert W.T., Oral Administration of Diferuloylmethane (Curcumin) Suppress Proinflammatory Cytokines and Destructive Connective Tissue Remodeling in Experimental Abdominal Aortic Aneurysms, *Annals of Vascular Surgery*, 20(3): 360-368.
- Puspaningtyas, Ayik Rosita, 2013, *Docking Molekul Dengan Menggunakan Metoda Molegro Virtual Docker* Dari Ekstrak Air *Psidium Guajava* Linn. Dan *Citrus Sinenses* Peels. Sebagai Inhibitor Pada Tirosinase Untuk Pemutih Kulit, *JKTI*, 15(1):31-39.
- Taqvi, Syed Intasar Husain, Abdul Jabbar Shah, Anwarul Hassan Gilani, 2008, Blood Pressure Lowering and Vasomodulator Effects of Piperine, *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 52(5): 452-458.
- Yang Y.C., S.G. Lee, H.K. Lee, M.K. Kim, S.H. Lee, H.S. Lee, 2002, A Piperidine Amide Extracted From *P Longum* L. Fruit Shows Activity Against *Aedes Aegypti* Mosquito Larvae, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(13): 3765-3767.