

SKRIPSI
UJI AKTIVITAS ANTAGONISME PIPERIN (*Piper nigrum* L.) PADA
RESEPTOR β_2 -ADRENERGIK ORGAN AORTA MARMUT
TERISOLASI : STUDI *INVITRO* DAN *INSILICO*

Disusun Untuk Memenuhi Sebagian Syarat Memperoleh Derajat
Sarjana Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
Universitas Muhammadiyah Yogyakarta



Disusun Oleh:

Nanda Priatmoko Pamuji Indra Putra

20140350031

PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH YOGYAKARTA

2018

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

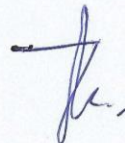
Nama : Nanda Priatmoko Pamuji Indra Putra
NIM : 20140350031
Program Studi : Farmasi
Fakultas : Kedokteran dan Ilmu Kesehatan

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa Skripsi yang saya tulis benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri dan belum pernah diajukan dalam bentuk apapun kepada universitas manapun. 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 Skripsi ini.

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

Yogyakarta, Mei 2018

Yang membuat pernyataan



Nanda Priatmoko Pamuji Indra Putra
20140350031

MOTTO

فَإِنَّ مَعَ الْعُسْرِ يُسْرًا (٥) إِنَّ مَعَ الْعُسْرِ يُسْرًا (٦)

Maka sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan, sesungguhnya bersama
kesulitan ada kemudahan (Al-Insyirah Ayat 5-6)

Jika Kau Tak Sanggup Menahan Lelahnya Belajar, Maka Kamu Harus Sanggup
Menahan Perihnya Kebodohan (Imam Syafi'i)

Orang yang paling aku sukai adalah dia yang menunjukkan kesalahanku
(Umar bin Khattab)

*When You Have Eliminated The Impossible, Whatever Remains, However
Improbable, Must Be The Truth (Sir Arthur Conan Doyle)*

HALAMAN PERSEMBAHAN

Bismillahirrahmanirrahim, Skripsi ini saya persembahkan dengan penuh cinta, kasih dan rindu untuk Almarhummah

Ibu saya Florentina Sri Pujiati Handono, dan kepada penyemangat hidup, Ayah saya Supriyadi yang tiada henti mengalirkan doa doanya kepada saya, serta teruntuk adik

tercinta saya Dimas Rizky Ramadhani dan Bayu Adi

Nugroho Pamungkas sebagai motivasi saya untuk

menyelesaikan studi ini.

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Alhamdulillah, puji syukur kami panjatkan kepada Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul "Uji Aktivitas Antagonisme Piperin (*Piper nigrum* L.) Pada Reseptor β_2 -Adrenergik Organ Aorta Marmut Terisolasi : Studi *Invitro* dan *InSilico*". Tujuan penulisan proposal ini untuk memenuhi tugas akhir dalam menyelesaikan Pendidikan Sarjana Farmasi di Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.

Penulis menyadari bahwa Skripsi ini ditulis atas bantuan dari berbagai pihak. Untuk itu sudah sepantasnya penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Ibu Sabtanti Harimurti, Ph.D., Apt. selaku Kepala Program Studi Farmasi FKIK UMY
2. Bapak Puguh Novi Arsito selaku dosen pembimbing Skripsi yang telah bersedia meluangkan waktu, terima kasih bimbingan, arahan, kesabaran, dan ilmu yang diberikan selama penelitian hingga selesainya penyusunan Skripsi ini.
3. Ibu Rima Erviana, M.Sc., Apt. dan Ibu Sri Tasminatun, M.Si., Apt. selaku dosen penguji yang telah memberikan kritik, saran serta masukan kepada penulis dalam menyelesaikan Skripsi ini.
4. Kepada Kepala LP3M Universitas Muhammadiyah Yogyakarta yang telah memberikan dana penelitian melalui program penelitian kemitraan.

5. Seluruh dosen Farmasi FKIK Universitas Muhammadiyah Yogyakarta yang telah memberikan ilmu, dukungan, wawasan, dan pengetahuan yang luas selama masa perkuliahan.
6. Teman seperjuangan penelitian saya Ananta Marabet dan Nur Fujiati Dewi. Terima kasih atas kerjasamanya hingga meluangkan banyak waktu selama berlangsungnya penelitian bersama ini.
7. Terima kasih kepada kakak tingkat Ismanurahman Hadi dalam memberi masukan dan motivasi serta Ilham Perdana, Julio Candra yang bersedia memberi arahan dan berbagi pengalaman dalam penelitian
8. Terima kasih kepada Mas Satria dan mbak Zelmi
9. Seluruh teman-teman Farmasi FKIK UMY 2014 yang saling mendukung satu sama lain selama menempuh pendidikan.
10. Dan semua pihak baik secara langsung maupun tidak langsung yang telah membantu dalam penyusunan Skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini masih sangat sederhana dan tidak luput dari kekurangan. Oleh karena itu, kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan demi sempurnanya penulisan ini. Akhirnya, semoga skripsi ini dapat diterima sehingga penulis dapat melaksanakan langkah selanjutnya hingga menyelesaikan program Sarjana Farmasi.

Wassalamualaikum Wr. Wb.

Yogyakarta, Mei 2018

Nanda Priatmoko Pamuji Indra Putra

DAFTAR ISI

SKRIPSI.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	iii
MOTTO	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
INTISARI.....	xiv
ABSTRACT.....	xv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. LATAR BELAKANG	1
B. RUMUSAN 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> L.).....	5
1.Uraian Tanaman	5
2.Kandungan dan Manfaat lada (<i>Piper nigrum</i> L.)	6
3.Piperin.....	7
B. INTERAKSI OBAT DENGAN RESEPTOR.....	8
1.Obat Agonis dan Antagonis.....	8
2.Adrenoreseptor	9
3.Hubungan Konsentrasi Obat dengan Respon	10
C. PERCOBAAN DENGAN ORGAN TERISOLASI	11
D. DOCKING MOLECULAR	12
E. LANDASAN TEORI.....	13
F.KERANGKA KONSEP.....	15

G. HIPOTESIS DAN DATA LAIN YANG INGIN DIUNGKAP	15
1. Hipotesis	15
2. Data lain yang ingin diungkap	16
BAB III METODE PENELITIAN.....	17
A. DESAIN PENELITIAN.....	17
B. TEMPAT DAN WAKTU	17
C. KELOMPOK SAMPEL.....	17
D. IDENTIFIKASI VARIABEL	17
E. ALAT DAN BAHAN	18
1. Bahan	18
2. Alat	19
F. PROSEDUR KERJA DAN ALUR PENELITIAN	19
1. Uji <i>Insilico</i>	19
a. Instalasi Sistem Operasi <i>Linux</i> dan Aplikasi Pendukung.....	19
b. Penyiapan Protein Target dalam format <i>PDBQT</i>	19
c. Preparasi Ligan dalam Format <i>PDBQT</i>	20
d. Preparasi Ligan dan Protein Target dalam Format <i>PDBQT</i>	20
e. Preparasi <i>Grid Parameter File</i>	21
f. Preparasi <i>Docking Parameter File</i>	21
g. Simulasi <i>Docking</i>	21
h. Visualisasi Hasil <i>Docking</i>	22
2. Penyiapan Larutan <i>Buffer Krebs</i>	22
3. Penyiapan Larutan Alkaloid <i>Piper nigrum L.</i>	22
4. Penyiapan Seri Konsentrasi Adrenalin	23
5. Pembuatan Larutan Timolol 2×10^{-3}	23
6. Preparasi Organ aorta	24
7. Uji Aktivitas Alkaloid <i>Piper nigrum L.</i> Terhadap Agonis Reseptor Fisiologis.....	24
8. Uji Pembanding Timolol	25
G. SKEMA LANGKAH KERJA	27
H. DATA DAN ANALISIS DATA	28
1. Data.....	28
2. Analisis Data.....	28
3. Statistika	29

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	30
A. ISOLASI KRISTAL PIPERIN LADA <i>Piper nigrum</i> L..	30
1. Uji Identifikasi Piperin Dengan Metode KLT Pada Lada (<i>Piper nigrum</i> L.).....	30
B. UJI <i>INVITRO</i> DENGAN METODE <i>ORGAN BATH</i>	33
1. Penyiapan <i>Buffer Krebs</i>	33
2. Penyiapan Alat <i>Organ Bath</i>	34
3. Preparasi Organ Aorta Marmut	34
4. Uji <i>Invitro</i> Aktivitas Senyawa <i>Piperin</i> dalam <i>Piper Nigrum</i> L.....	35
5. Uji Perbandingan Menggunakan Timolol (Kontrol Positif).....	36
6. Pengaruh Piperin Terhadap Reseptor β_2 - Adrenergik Otot Polos Aorta. ...	39
C. UJI <i>INSILICO</i> SENYAWA PIPERIN PADA RESEPTOR β_2 - ADRENERGIK.....	42
1. Validasi Protokol <i>Docking</i>	42
2. Hasil <i>Docking Molecular</i>	43
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	48
A. KESIMPULAN	48
B. SARAN	48
DAFTAR PUSTAKA	49
LAMPIRAN.....	53

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Tanaman <i>Piper nigrum</i> L. (Vasavirama dan Upender, 2012)	5
Gambar 2. Senyawa Piperin (Vasavirama dan Upender, 2012)	7
Gambar 3. Mekanisme Umum Ligan dan Reseptor (Trevor <i>et al</i> , 2010).....	8
Gambar 4. Adrenalin	9
Gambar 5. Kerangka Konsep.....	15
Gambar 6. Skema Langkah Kerja.....	27
Gambar 7. Uji identifikasi KLT senyawa piperin sebelum disemprot <i>dragendorff</i>	31
Gambar 8. Uji identifikasi KLT senyawa piperin setelah disemprot <i>dragendorff</i>	32
Gambar 9. Reaksi antara piperin dengan pereaksi <i>dragendorff</i>	33
Gambar 10. Kurva hubungan logaritma konsentrasi adrenalin terhadap % respon kontraksi dengan pra perlakuan timolol 10 dan 50 μ M.	37
Gambar 11. Kurva hubungan logaritma konsentrasi adrenalin terhadap % respon kontraksi dengan pra perlakuan piperin 10 dan 50 μ M.....	40
Gambar 12. Hasil Visualisasi 2D Timolol terhadap reseptor β_2 -adrenergik.	43
Gambar 13. Hasil Visualisasi 2D Timolol terhadap reseptor β_2 -adrenergik.	44
Gambar 14. Hasil Visualisasi 2D Piperin terhadap reseptor β_2 -adrenergik..	45

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Larutan <i>buffer krebs</i>	22
Tabel 2. Cara pemberian dosis agonis adrenalin	25
Tabel 3. Hasil identifikasi senyawa dengan KLT	32
Table 4. Kenaikan EC_{50} akibat pemberian praperlakuan timolol	38
Tabel 5. Pergeseran nilai pD_2 karena pengaruh timolol 10 dan 50 μM	38
Tabel 6. Kenaikan EC_{50} akibat pemberian praperlakuan piperin	41
Tabel 7. Pergeseran nilai pD_2 karena pengaruh piperin 10 dan 50 μM	42
Tabel 8. Nilai energi ikatan dan interaksi ligan dengan residu protein target.....	46

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Perhitungan penyiapan agonis dan piperin	54
Lampiran 2. Data pengaruh timolol Terhadap Reseptor β_2 -Adrenergik Otot Polos Aorta	55
Lampiran 3. Data pengaruh Piperin Terhadap Reseptor β_2 -Adrenergik Otot Polos Aorta	57
Lampiran 4. Hasil Uji Statistik Pada Uji Pengaruh Timolol Reseptor β_2 -Adrenergik Otot Polos Aorta	59
Lampiran 5. Hasil Uji Statistik Pada Uji Pengaruh piperin Reseptor β_2 - Adrenergik Otot Polos Aorta	62
Lampiran 6. Hasil Uji Statistik antara piperin dengan timolol.....	65
Lampiran 7. Hasil Konformasi <i>Molecular Docking</i>	68
Lampiran 8. Dokumentasi preparasi organ	70
Lampiran 9. Dokumentasi Aorta yang telah dibersihkan dan diikat kedua sisinya dimasukkan ke dalam chamber	70
Lampiran 10. Pencatatan reaksi kontraksi dengan aplikasi <i>Labscribe 2</i>	71
Lampiran 11. Dokumentasi keterangan lolos uji etik	72
Lampiran 12. Hasil cek turnitin.....	73

INTISARI

Piperin adalah salah satu senyawa alkaloid yang terkandung di dalam lada (*Piper nigrum* L.). Kontraksi pembuluh darah terjadi apabila adrenalin yang berikatan pada β -*adrenoreceptors*. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh pemberian alkaloid piperin dari *Piper Nigrum* L. terhadap β -*adrenoreceptors* dan aktivitas antagonisme pada aorta marmut terisolasi serta nilai Afinitas piperin dari hasil *docking molecular*.

Penelitian dilaksanakan secara *invitro* menggunakan instrumen *organ bath* dan *insilico* menggunakan metode *docking molecular*. Pengujian piperin menggunakan dosis 10 μ M dan 50 μ M terhadap organ marmut terisolasi. Data yang diperoleh adalah jumlah persen kontraksi aorta terhadap pemberian seri konsentrasi agonis yang akan diubah menjadi pD2. Nilai pD2 dianalisis secara statistik menggunakan *One-way* Anova dan dilanjutkan dengan *post-hoc test* LSD dengan taraf kepercayaan 95%. Penelitian *insilico* dilakukan menggunakan piperin sebagai *ligand* dan reseptor β_2 -adrenergik pada manusia (PDB ID: 4LDO).

Hasil menunjukkan bahwa piperin dosis 10 μ M dan 50 μ M mampu menggeser kurva persentase respon kontraksi terhadap pemberian seri agonis. Pemberian piperin dosis 10 μ M dan 50 μ M tidak mampu mengembalikan nilai E_{maks} kembali seperti semula (100%). Nilai E_{maks} pemberian piperin dosis 10 μ M dan 50 μ M secara berturut-turut adalah 75.16 % dan 71.99 %. Sedangkan nilai pD2 kontrol sebesar 8.20, nilai pD2 piperin dosis 10 μ M 6.22 dan nilai pD2 piperin dosis 50 μ M adalah 5.95. Nilai Afinitas piperin dari hasil *docking molecular* terhadap reseptor β_2 -adrenergik adalah sebesar -9,1.

Kata kunci : piperin, *invitro*, *insilico*, isolasi organ, antagonis β_2 adrenergik

ABSTRACT

Piperin is one of the alkaloid compounds contained in pepper (Piper nigrum L). Blood vessel contraction occurs when adrenaline binds to β -adrenoreceptors. The purpose of this study was to determine the effect of piperine alkaloid from Piper nigrum L. against β -adrenoreceptors and antagonism activity in isolated marmot aorta and piperine affinity values from molecular docking results.

The study was conducted in an invitro using instruments organ bath and insilico using molecular docking method. Piperin tests used a dose of 10 μ M and 50 μ M and toward isolated guinea pig organs. The data obtained is the number of percent of aortic contraction of the agonist concentration series that will be converted to pD2. The pD2 values were statistically analyzed using One-way Anova and followed by a post-hoc LSD test with 95% confidence level. Insilico studies were performed using piperin as a ligand and β_2 adrenergic receptor in humans (GDP ID: 4LDO).

The results showed that piperin doses of 10 μ M and 50 μ M were able to shift the contraction response percentage curve to the agonist series administration. The administration of piperin doses of 10 μ M and 50 μ M was not able to return the value of E_{max} back to normal (100%). Emerging values of piperin dose of 10 μ M and 50 μ M were 75.16% and 71.99%, respectively. While the value of pD2 control of 8.20, pD2 piperin value dose 10 μ M 6.22 and pD2 piperin dose 50 μ M is 5.95. The value of piperine affinity from the molecular docking result on β_2 adrenergic receptor is -9.11.

Keywords: piperine, invitro, insilico, organ isolation, β_2 adrenergic antagonist