

Senyawa Metabolite Sekunder dan Aktifitas Afrodisiak Ekstrak Etanol Cabe Jawa (*Piper retrofractum* Vahl) Secara In silico

Secondary Metabolite Compounds and Aphrodisiac Activity of Ethanol Extract of Cabe Jawa (*Piper retrofractum* Vahl) With In silico Methode

Taufikurrahman¹, Retno Widyowati², Sukardiman^{2,*}

¹Program Magister Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, Indonesia

²Departemen Ilmu Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga, Indonesia

*Email Korespondensi: sukardiman@ff.unair.ac.id

Abstrak

Disfungsi ereksi merupakan salah satu masalah seksual yang paling umum terjadi pada pria. Obat yang tersedia di pasaran dapat digunakan untuk mengatasi masalah ini, tetapi penggunaan obat tersebut seringkali menimbulkan efek samping yang tidak diinginkan., penggunaan bahan alami sebagai alternatif pengobatan semakin populer, salah satunya yaitu ramuan berbahan cabe jamu (*Piper retrofractum* Vahl). Metabolit profiling dari tanaman cabe jamu ternyata berbeda-beda tergantung dari lokasi tumbuhnya, hal tersebut diduga mengakibatkan perbedaan kondisi dan keadaan alam yang berakibat pada perbedaan aktivitas afrodisiak. Cabe jamu yang diekstrak dengan etanol 96% di analisa dengan menggunakan LC/MS, terdeteksi sebanyak sepuluh metabolite sekunder yaitu, Salsolinol, Quercetin, Caffeoyl putrescin, Diferuloyl putrescine, Feruloyl tyramine, Hydroxychloroquine, Tetrahydropapaveroline, Piperine, N-Oleyl-Leucine, Capsaicin. Dari hasil uji in silico diketahui bahwa piperine memiliki aktifitas sebagai penghambat phosphodiesterase type 5 (PDE5) dengan nilai energi ikat dan konstanta inhibisi sebesar -8,62 kkal/mol dan 0,485 uM.

Kata Kunci: *Piper retrofractum* Vahl, Metabolite sekunder, Afrodisiak

Abstract

Erectile dysfunction is one of the most common sexual problems in men. Drugs available on the market can be used to treat this problem, but the use of these drugs often causes unwanted side effects, the use of natural ingredients as an alternative treatment is increasingly popular, one of which is a herb made from chili jamu (*Piper retrofractum* Vahl). Metabolite profiling of the chili jamu plant turns out to be different depending on the location of growth, it is thought to result in differences in natural conditions and circumstances which result in differences in aphrodisiac activity. Cabe Jawa extracted with 96% ethanol was analyzed using LC / MS, detected as many as ten secondary metabolites namely,

Salsolinol, Quercetin, Caffeoyl putrescin, Diferuloyl putrescine, Feruloyl tyramine, Hydroxychloroquine, Tetrahydropapaveroline, Piperine, N-Oleyl-Leucine, Capsaicin. From the results of in silico tests, it is known that piperine has activity as a phosphodiesterase type 5 (PDE5) inhibitor with binding energy and inhibition constant values of -8.62 kcal/mol and 0.485 μ M.

Keywords: *Piper retrofractum* Vahl, Secondary metabolite, Aphrodisiac

Diterima: 01 April 2024

Disetujui: 31 Oktober 2024

DOI: <https://doi.org/10.25026/jsk.v6i5.2391>



Copyright (c) 2024, Jurnal Sains dan Kesehatan (J. Sains Kes.). Published by Faculty of Pharmacy, University of Mulawarman, Samarinda, Indonesia. This is an Open Access article under the CC-BY-NC License.

Cara Sitasi:

Taufikurrahman, T., Widyowati, R., Sukardiman, S., 2024. Senyawa Metabolite Sekunder dan Aktifitas Afrodisiak Ekstrak Etanol Cabe Jawa (*Piper retrofractum* Vahl) Secara In silico. *J. Sains Kes.*, **6**(5). 702-707. DOI: <https://doi.org/10.25026/jsk.v6i5.2391>

1 Pendahuluan

Disfungsi ereksi merupakan suatu penyakit yang sering dialami oleh pria maupun wanita. Disfungsi ereksi pada pria menyebabkan penurunan kualitas hidup, hal tersebut di akibatkan oleh penurunan tingkat kepercayaan diri dalam melakukan hubungan seksual. Disfungsi ereksi dialami oleh 40 % pria di usia diatas 40 tahun dengan berbagai macam tingkat kompleksitasnya [1].

Disfungsi ereksi disebabkan oleh penurunan aktifitas aporodisiak. Afrodisiak digambarkan sebagai suatu zat yang dapat meningkatkan gairah seksual yang bekerja dalam menghambat enzim phosphodiesterase (PDE) yang mempunyai peran dalam peningkatan hidrolase cAMP dan cGMP [2].

Salah satu cara mengatasi masalah disfungsi ereksi adalah dengan terapi obat – obatan yang mengandung tadalafil, vardenafil, avanafil, udenafil, mirodenafil, dan lodenafil carbonate [3]. Mengonsumsi obat – obatan yang mengandung taladafin dalam jangka waktu yang lama dapat mengakibatkan timbulnya efek sakit kepala, gangguan pencernaan atau mulas,

mual, diare, kemerahan, nyeri di perut, punggung, otot, lengan, dan batuk. Beberapa efek seriusnya, misalnya, penurunan atau kehilangan penglihatan secara tiba-tiba, penglihatan kabur, perubahan penglihatan warna (melihat semburat biru pada objek atau kesulitan membedakan warna biru dan hijau), penurunan atau kehilangan pendengaran secara tiba-tiba, telinga berdenging [4]

Masyarakat Madura memiliki bermacam-macam ramuan herba, salah satunya ramuan herbal untuk meningkatkan keperkasaan pria. Beberapa jenis ramuan yang memiliki fungsi sebagai terapi bagi pasien dengan keluhan disfungsi ereksi. Salah satu bahan yang ada terdapat pada ramuan tersebut adalah cabe jamu. Ramuan tradisional Madura yang menggunakan cabe jamu digunakan sebagai pengobatan, sakit kepala, sakit perut, demam, dan penambah stamina [5]. Buah cabe jamu dilaporkan memiliki senyawa piperin, methyl piperate, N-isobutyl-2E,4E,14Z-eicosatrienamide [6]. Senyawa piperin pada cabe jamu mencapai 41,71 % dari seluruh

senyawa yang berhasil di ekstrak dengan menggunakan pelarut etanol [7]

Identifikasi senyawa metabolite yang dilakukan dengan menggunakan LC/MS dapat mengidentifikasi beberapa metabolit sekunder, termasuk alkaloid, flavonoid, dan terpenoid. Informasi yang diperoleh dari analisis ini sangat berharga dalam memahami peran metabolit sekunder dalam berbagai proses biologis, seperti interaksi tumbuhan dengan lingkungannya, sifat obat dari tanaman obat, dan potensi farmakologis untuk pengembangan obat baru.

Metode in silico dapat dilakukan untuk memprediksi aktivitas senyawa afrodisiak. Penelitian bertujuan untuk memprediksi aktivitas senyawa afrodisiak dari cabe jawa dilakukan terhadap reseptor fosfodiesterase-5 (PDE-5) manusia menggunakan teknik molekuler docking. Pendekatan in silico memungkinkan prediksi interaksi antara senyawa dan reseptor, seperti konstanta inhibisi, energi ikatan, ikatan hidrogen dan gaya van der Waals [8]–[10]. Berdasarkan uraian tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa metabolit dan aktifitas afrodisiak dari ekstrak etanol 96% cabe jawa.

2 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah True Experimental Research dengan kombinasi penelitian di laboratorium dan pengujian dengan menggunakan instrument komputasi. Penelitian ini diawali dengan sampling cabe jawa yang akan digunakan, dalam penelitian ini sampel berasal dari kecamatan Bluto kabupaten Sumenep. Sampel dikeringkan dan digiling hingga menjadi serbuk simplisia dengan ukuran 80 mesh untuk selanjutnya dilakukan analisa kadar air dan diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1:10 b/v. Waktu perendaman selama 24 jam dengan remaserasi sebanyak 3x. Ekstrak dikentalkan dengan menggunakan rotary evaporator pada suhu 45°C dengan kecepatan 120 rpm. Ekstrak dianalisa senyawa metabolitnya dengan menggunakan Ultra-Performance Liquid Chromatography (UPLC) (LC: ACQUITY UPLC® H-Class System, Waters, USA) sebagai unit

Liquid chromatography, spektrometer massa (Xevo G2-S QToF, Waters, USA). Kolom ACQUITY UPLC BEH (Ethylene Bridge Hybride) C18 (1.8 µm 2.1 x 50 mm; Waters, USA).

Senyawa metabolit yang telah teridentifikasi dilakukan pengujian aktivitas afrodisiak dengan uji in silico dengan menggunakan struktur tiga dimensi protein Structure of human phosphodiesterase type 5 (PDE5) inhibitor sebagai protein penghambat afrodisiak dengan PDB ID 2H42 yang diunduh dari Bank Data Protein (Protein Data Bank). Untuk post docking analysis, protein terpilih di analisa dengan menggunakan Discovery Studio Visualizer®, AutoDock Tools® 1.5.6 (The Scripps Research Institute, Amerika), AutoDock 4.2.6 (The Scripps Research Institute, Amerika), Autogrid 4.2.6 (The Scripps Research Institute, Amerika), PyMOL® (DeLano Scientific LLC, Italia).

3 Hasil dan Pembahasan

Hasil pengukuran kadar air menunjukkan bahwa simplisia cabe jawa memiliki kadar air yaitu 3,856 %. Menurut (Menkes, 1994) parameter standar kadar air pada simplisia tidak lebih dari 10%. Ekstraksi cabe jawa dilakukan menggunakan metode maserasi dengan perbandingan pelarut yaitu sebanyak masing-masing 100 g simplisia cabe jawa dimaserasi dengan pelarut etanol 96% sebanyak 1000 ml. Metode maserasi ini digunakan karena ekstraksi cara dingin sehingga tidak menggunakan suhu tinggi yang dapat merusak senyawa metabolit. Keuntungan maserasi yaitu bahan yang sudah halus memungkinkan untuk direndam dalam pelarut sampai meresap dan melunakkan susunan sel sehingga zat-zat yang mudah larut akan terlarut. Setelah perendaman 24 jam pertama, maserasi yang dihasilkan berwarna coklat pekat. Remaserasi dilakukan sebanyak 3x untuk memaksimalkan senyawa metabolit yang terekstrak.

Untuk mendapatkan ekstrak kental cabe jamu, dilakukan pemekatan dengan rotary evaporator. Pengentalan dimaksudkan untuk menghilangkan pelarut, dan yang tersisa merupakan senyawa aktif dan metabolit yang terdapat pada cabe jawa. Rendemen yang dihasilkan dari ekstrak etanol 96% cabe jawa sebesar 5,34% dengan ekstrak berwarna kental

dan berminyak. Pada penelitian ini dilakukan pengujian senyawa fitokimia pada cabe jawa dideteksi menggunakan kromatografi cair ditambah dengan tandem spektrometri massa (LC-MS/MS). Oleh karena itu, metode yang dibuat detektor triple quadrupole digunakan dalam penyelidikan ini. Jatuh tempo karena selektivitas dan sensitivitasnya yang tinggi, teknik ini dianggap sebagai lebih efisien dibandingkan teknik LC lainnya. Analisis metabolik ini memantapkan adanya alkaloid, flavonoid, dan asam lemak. Hasil ini disajikan pada (Tabel 1) dan Kromatogram Ion Total (TIC) dari Ekstrak cabe jawa disajikan

pada (Gambar 1). Puncak pada waktu retensi (Rt) 10,56 menunjukkan adanya senyawa piperine. Hal ini didukung oleh penelitian sebelumnya dimana senyawa bioaktif pada cabe jawa adalah piperine. Keanekaragaman senyawa biokimia dan efek farmakologis, memiliki potensi dalam terapi disfungsi ereksi [11]. Senyawa alkaloid telah menjadi perhatian besar selama sedekade terakhir. Senyawa alkaloid lain yang ditemukan antara lain salsolinol dengan waktu retensi 1,717, Caffeoyl putrescin, tetrahydropapaveroline, dan capsaicin dengan waktu retensi dan palmatine dengan waktu retensi 5,718; 10,267; 15,778.

Tabel 1 informasi spektra LC/MS

RT	WM (g/mol)	Fragmentasi (m/z)	senyawa
1,717	179,0946	163.0740; 145.0630	Salsolinol (C ₁₀ H ₁₃ NO ₂)
4,705	302,0426	285.0401; 257.0448; 229.0500; 153.0177	Quercetin (C ₁₅ H ₁₀ O ₇)
5,718	250,298	163.0391; 145.0269; 135.0460	Caffeoyl putrescin (C ₁₃ H ₁₈ N ₂ O ₃)
6,421	440,4960	265.1559; 177.0564; 145.0289	Diferuloyl putrescine (C ₂₄ H ₂₈ N ₂ O ₆)
7,827	313,3530	177.0555; 145.0322; 121.0685	Feruloyl tyramine (C ₁₈ H ₁₉ NO ₄)
8,086	335,1764	247.0989; 248.1018; 158.1527	Hydroxychloroquine (C ₁₈ H ₂₆ ClN ₃ O)
10,267	287,1157	271.0930; 164.069	Tetrahydropapaveroline (C ₁₆ H ₁₇ NO ₄)
10,56	285,34	201.05; 202.05; 286.14; 287.14; 288.15	Piperine (C ₁₇ H ₁₉ NO ₃)
13,451	395,3399	86.0959; 132.1018	N-Oleyl-Leucine (C ₂₄ H ₄₅ NO ₃)
15,778	305,1990	137.0599; 122.0368; 94.0414	Capsaicin (C ₁₈ H ₂₇ NO ₃)

Tabel 2 hasil penambatan molekuler dari hasil LC/MS terhadap 2H42

Senyawa	Energi ikat	Konstanta inhibisi
Salsolinol (C ₁₀ H ₁₃ NO ₂)	-5,60	82.00 uM
Quercetin (C ₁₅ H ₁₀ O ₇)	-6,70	12.69 uM
Caffeoyl putrescin (C ₁₃ H ₁₈ N ₂ O ₃)	-5,60	267.50 uM
Diferuloyl putrescine (C ₂₄ H ₂₈ N ₂ O ₆)	-6,18	67.60 uM
Feruloyl tyramine (C ₁₈ H ₁₉ NO ₄)	-5,08	134.98 uM
Hydroxychloroquine (C ₁₈ H ₂₆ ClN ₃ O)	-7,47	6.23 uM
Tetrahydropapaveroline (C ₁₆ H ₁₇ NO ₄)	-7,80	23.01 uM
Piperine (C ₁₇ H ₁₉ NO ₃)	-8,62	0,485 uM
N-Oleyl-Leucine (C ₂₄ H ₄₅ NO ₃)	-5,80	822.60 uM
Capsaicin (C ₁₈ H ₂₇ NO ₃)	-7,19	7.57 uM

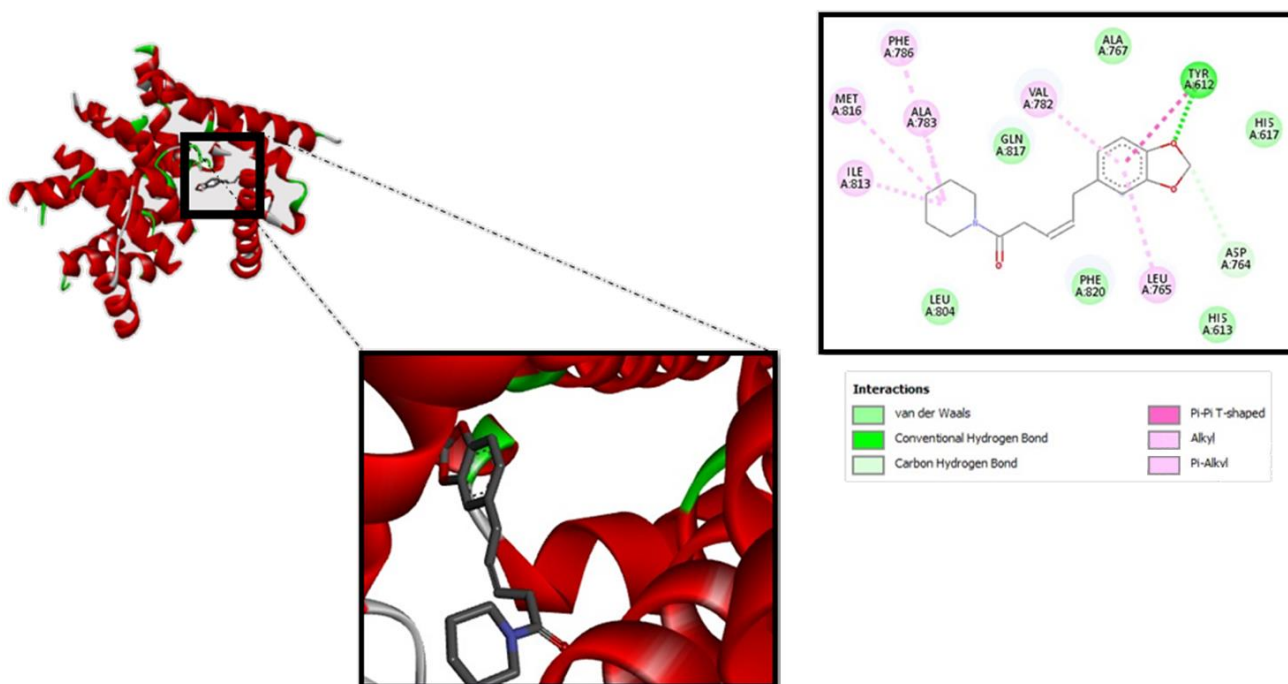
Sebanyak 10 senyawa yang diperoleh dari hasil LC-MS/MS kemudian dilakukan penambatan molekuler protein phosphodiesterase-5 inhibitor dengan PDB ID: 2H42. Pemilihan PDB ID 2H42 didasarkan pada relevansinya sebagai kompleks inhibitor-protein PDE-5 pada manusia, keberhasilan pada uji aktifitas afrodisiak pada berbagai macam senyawa aktif sebelumnya, ketersediaan informasi yang rinci, dan keterbukaan serta aksesibilitas struktur tersebut. Interaksi pengikatan molekul telah ditentukan berdasarkan nilai energi bebasnya dan peran

utama interaksi asam amino. Hasil dari molekuler docking dapat dilihat pada (Tabel 2). Berdasarkan hasil docking terdeteksi beberapa senyawa dari cabe jawa yang memiliki konformasi terbaik dengan energi terendah. Senyawa bioaktif dengan energi ikat bebas terendah adalah piperine dengan ($\Delta G = -8,62$ kkal/mol), Namun jika dibandingkan dengan kontrol positif, nilai energi ikatan seldenafile lebih rendah dibandingkan tiga senyawa tertinggi yaitu -9,12 kkal/mol. Nilai energi pengikatan bebas negatif (ΔG) yang tinggi menyiratkan pengaruh pengikatan proteinligan

secara spontan dan menstabilkan interaksi protein-ligan. Selain itu, mereka adalah prediksi docking molekuler yang unggul. Skor pengikatan terendah berkorelasi dengan nilai konstanta inhibisi (K_i) terendah

Berdasarkan penelitian penambatan molekuler, senyawa teratas dengan skor docking tertinggi yaitu piperine, memiliki kandungan kimia yang relatif lebih tinggi berpotensi sebagai inhibitor PDE5. Berdasarkan studi sebelumnya piperine juga menunjukkan

sifat sebagai afrodisiak. Interaksi asam amino dari hasil molekuler docking dapat dilihat pada Gambar 1, Hasil ini mencoba menemukan hal yang penting asam amino yang berkontribusi pada interaksi situs aktif hidrogen PDE-5, seperti LEU804, GLN817, PHE820, ALA767, HIS617, ASP764, dan HIS613. Ikatan hidrogen merupakan salah satu pengikat non-kovalen yang berperan peran penting dalam skor docking, formasi kompleks, dan pengikatan kekuatan modulus [12].



Gambar 1 Interaksi protein dan ligan piperine sebagai ligan terbaik dalam aktifitas afrodisiak

Ikatan hidrogen berperan dalam interaksi antara ligan dan protein, namun interaksi ikatan lainnya juga ikut mempengaruhi energi ikat yang terjadi. Oleh karena itu, selain ikatan hidrogen, hal yang penting komponen energi pengikat situs-situs ini kemungkinan besar berasal kontak van der Waals.

4 Kesimpulan

Hasil LC/MS ekstrak etanol 90% cabe jawa menunjukkan bahwa ekstrak ini mengandung 10 komponen antara lain alkaloid, flavonoid, dan asam lemak. Piperine mendapatkan skor docking molekuler tertinggi pada uji docking in-silico molecular, Informasi ini berguna untuk

penyelidikan bioassay di masa depan mengenai potensi penerapannya sebagai terapi afrodisiak. Penting untuk mengisolasi molekul yang diperoleh dari docking yang dijelaskan dalam penelitian ini

5 Pernyataan

5.1 Penyanggah Dana

Penelitian ini tidak mendapatkan pendanaan dari sumber manapun.

5.2 Kontribusi Penulis

Semua penulis berkontribusi dalam penulisan artikel ini.

5.3 Konflik Kepentingan

Dengan ini penulis menyatakan bahwa, yang termuat dalam artikel ini bersifat ilmiah dan tidak terkait dengan kepentingan apapun. Artikel ini disusun dan ditulis semata-mata untuk pengembangan ilmu pengetahuan khususnya dibidang bahan alam.

6 Daftar Pustaka

- [1] C. Vlachopoulos, G. Jackson, C. Stefanadis, and P. Montorsi, "Erectile dysfunction in the cardiovascular patient," *Eur. Heart J.*, vol. 34, no. 27, pp. 2034–2046, 2013, doi: 10.1093/eurheartj/eh112.
- [2] K. A. Hadi, Samsul, A. Khairunnisa, and N. Komari, "Penambatan Molekul Kandungan Eurycoma longifolia Jack . (Pasak Bumi) terhadap," *J. Pharmascience*, vol. 07, no. October, pp. 36–47, 2020, doi: 10.20527/jps.v7i2.8731.
- [3] S. H. Lee, H. Y. Kim, S. Y. Back, and H. K. Han, "Piperine-mediated drug interactions and formulation strategy for piperine: recent advances and future perspectives," *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.*, vol. 14, no. 1, pp. 43–57, 2018, doi: 10.1080/17425255.2018.1418854.
- [4] A. Aziz, N. A. Bakar, and Z. Zakaria, "Unsafe Ingredients Included in Malaysian Food Drug Interphase (FDI) Products: Toyyan perspective," *Malaysian J. Halal Res.*, vol. 3, no. 2, pp. 63–68, 2020, doi: 10.2478/mjhr-2020-0011.
- [5] L. Sudarmaji, A. Hayati, and T. Rahayu, "Etnobotany Study of Cabe Jamu (*Piper retrofractum* Vahl) in East Gapura Village Village Gapura District of Sumenep," *e-Jurnal Ilmiah BIOSAIN TROPIS (BIOSCIENCE-TROPIC)*, vol. 4, pp. 26–32, 2019.
- [6] W. M. N. H. W. Salleh, N. A. Hashim, N. P. Fabarani, and F. Ahmad, "Antibacterial activity of constituents from *piper retrofractum* vahl. and *piper arborescens* roxb.," *Agric. Conspec. Sci.*, vol. 85, no. 3, pp. 269–280, 2020.
- [7] Junairiah, S. E. Amalia, Ni'matuzahroh, and T. Nurhariyati, "Identification of phytochemical compounds in ethanol and n-hexane leaf extracts of *Piper retrofractum* vahl. by gas chromatography mass spectrometry," *Moroccan J. Chem.*, vol. 8, no. S1, pp. 32–37, 2020, doi: 10.48317/IMIST.PRSM/morjchem-v8i1.19122.
- [8] N. Kusumorini, A. K. Nugroho, S. Pramono, and R. Martien, "Development of new isolation and quantification method of piperine from white pepper seeds (*Piper Nigrum* L) using a validated HPLC," *Indones. J. Pharm.*, vol. 32, no. 2, pp. 158–165, 2021, doi: 10.22146/ijp.866.
- [9] Y. Syukri, A. E. Nugroho, R. Martien, and E. Lukitaningsih, "Validasi Penetapan Kadar Isolat Andrografolid dari Tanaman Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) Menggunakan HPLC," *J. Sains Farm. Klin.*, vol. 2, no. 1, p. 8, 2015, doi: 10.29208/jsfk.2015.2.1.42.
- [10] Y. Syukri, R. Martien, E. Lukitaningsih, and A. E. Nugroho, "Quantification of andrographolide isolated from *andrographis paniculata* nees obtained from traditional market in yogyakarta using validated HPLC," *Indones. J. Chem.*, vol. 16, no. 2, pp. 190–197, 2016, doi: 10.14499/ijc-v16i2p190-197.
- [11] M. Rifa, "Andrographolide Ameliorate Rheumatoid Arthritis by Promoting the Development of Regulatory T Cells," *J. Trop. Life Sci.*, vol. 1, no. 1, pp. 5–8, 2011, doi: 10.11594/jtls.01.01.02.
- [12] H. Fikrika, L. Ambarsari, and T. Sumaryada, "Molecular Docking Studies of Catechin and Its Derivatives as Anti-bacterial Inhibitor for Glucosamine-6-Phosphate Synthase," *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.*, vol. 31, no. 1, 2016, doi: 10.1088/1755-1315/31/1/012009.