

ISOLASI PIPERIN DARI LADA PUTIH (*Piper Nigrum L*) DENGAN METODE EKSTRAKSI SOKLETASI DAN MASERASI SERTA UJI *IN SILICO* PIPERIN TERHADAP RESEPTOR KANKER KOLON

*Waralita Mayudanti, **Sabtanti Harimurti
Undergraduated, Muhammadiyah University of Yogyakarta *
Lecturer, Muhammadiyah University of Yogyakarta**
Waralita910@gmail.com

INTISARI

Piperin adalah senyawa golongan alkaloid yang terdapat dalam tanaman famili Piperaceae, seperti *Piper nigrum*. Piperin dilaporkan dapat menghambat pertumbuhan sel kanker kolon. Kasus kanker kolon 35-77% disebabkan oleh ekspresi EGFR yang berlebihan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui jumlah rendemen, sifat fisika dan kimia kristal piperin dari lada putih yang diekstraksi menggunakan metode sokletasi dan maserasi dengan pelarut etil asetat serta untuk mengetahui afinitas senyawa piperin terhadap reseptor kanker kolon (EGFR).

Penelitian ini dilakukan dengan 2 metode ekstraksi yaitu metode sokletasi dan maserasi menggunakan pelarut etil asetat dengan perbandingan 1:3. Setelah diperoleh ekstrak etil asetat kemudian dilakukan isolasi piperin. Isolasi piperin dilakukan dengan cara ekstrak disimpan dalam bejana yang tertutup selama 7 hari kemudian kristal yang terbentuk dicuci dengan etanol 96%. Kristal piperin yang diperoleh kemudian diidentifikasi menggunakan KLT, uji titik lebur, FTIR dan spektrofotometri UV-Vis. Dalam penelitian ini juga dilakukan uji *in silico* piperin terhadap EGFR (IIVO) menggunakan perangkat lunak *AutoDock*. Hasil uji *in silico* dianalisis dengan membandingkan skor ikatan piperin, senyawa pembanding (Gefitinib) dan ligan asli.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstraksi dengan metode sokletasi menghasilkan kristal piperin lebih banyak yaitu 0,96% sedangkan dengan metode maserasi yaitu 0,094%. Sifat fisika kimia piperin hasil ekstraksi metode sokletasi dan maserasi sesuai dengan acuan. Sedangkan, berdasarkan uji *in silico* menunjukkan bahwa piperin mampu berikatan dengan EGFR dan memiliki nilai energi ikatan yang tidak jauh berbeda dengan gefitinib yaitu -3,82 kkal/mol.

Kata Kunci: Sokletasi, Maserasi, Isolasi, Piperin, *in silico*

ABSTRACT

Piperine alkaloids are compounds found in the plant family Piperaceae, such as *Piper Nigrum*. Piperine reported to inhibit the growth of colon cancer cells. The 35-77% of colon cancer cases are caused by excessive expression of EGFR. The purpose of this study is to determine yields, physical and chemical properties of piperine of white pepper produced from soxhletation and maceration extraction method with solvent ethyl acetate, as well to determine the affinity of piperine against colon cancer receptor (EGFR) using molecular docking.

This research used 2 extraction methods were soxhletation and maceration. This extraction used ethyl acetate in a ratio of 1:3. Piperine isolated from ethyl acetate extract. Isolation of piperine conducted by stored the extract in a closed vessel then the crystals formed were washed using 96% ethanol. Physical and chemical properties of piperine identified by TLC, melting point, FTIR and UV-Vis spectrophotometry. In this research also used in silico method by using Autodock software. The result was analyzed by comparing binding scores of piperine, comparative compound (Gefitinib) and native ligand.

The result of this research showed that soxhletation method produced crystals of piperine more than maceration method. Piperine crystals obtained by soxhletation method is 0,96% whereas that obtained by maceration method is 0,094%. Physical and chemical properties of piperine produced from soxhletation and maceration extraction methods are suitable with the reference. In addition, based on in silico study showed that piperine has affinity against colon cancer receptor. Its docking score is -3,82 kkal/mol. It has a minimal difference to binding score of Gefitinib.

Keywords: Soxhletation, Maceration, Isolation, Piperine, in silico

PENDAHULUAN

Indonesia memiliki keanekaragaman hayati yang dapat dimanfaatkan untuk pengobatan. Salah satu keanekaragaman hayati tersebut adalah Lada (*Piper nigrum l*). Lada berdasarkan pengolahannya dibagi menjadi 2 yaitu lada hitam dan lada putih yang didapat dari jenis tanaman lada yang sama, namun lada hitam paling banyak digunakan dalam penelitian sedangkan penelitian

dengan menggunakan lada putih masih terbatas. Senyawa fitokimia yang terkandung di dalam lada salah satunya adalah senyawa golongan alkaloid yaitu piperin sehingga piperin dapat diisolasi dari lada. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa metode ekstraksi dan pelarut dapat mempengaruhi rendemen piperin (Istiqomah, 2013; Shingate, 2013).

Piperin memiliki beberapa aktivitas biologi, yaitu meningkatkan

penyerapan nutrisi dalam tubuh, antiinflamasi, analgesik, antikarsinogenik, antimutagenik dan antitumor (Vasavirama dan Mahesh., 2014; Kumar, 2007; Srinivasan, 2007). Piperin dilaporkan dapat menghambat pertumbuhan sel kanker kolon (Yaffe *et al* ,2014; Kim *et al* (2010). Penelitian tersebut menunjukkan bahwa piperin berpotensi untuk dikembangkan menjadi agen terapi kanker. Pengembangan agen terapi kanker juga dapat dilakukan menggunakan metode komputasi yaitu *Molecular Docking*.

METODE PENELITIAN

Alat.

Blender (National), ayakan ukuran 30 mesh, timbangan analitik (Sartorius), toples, alat-alat gelas (Pyrex), (Brand), plat silika gel 60 GF₂₅₄, Spektroskopi IR Shimazu FTIR 8201PC, komputer yang terinstal software *molecular docking* Autodock.

BAHAN.

Lada putih (*Piper nigrum l*), etil asetat (Bratachem/Grade teknis), etanol 96% (General Labora/Grade

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jumlah rendemen, sifat fisika dan kimia kristal piperin dari lada putih yang diekstraksi menggunakan metode sokletasi dan maserasi dengan pelarut etil asetat serta untuk mengetahui afinitas Piperin terhadap reseptor kanker kolon EGFR menggunakan *molecular docking* karena 35-77% kasus kanker kolon disebabkan oleh ekspresi EGFR yang berlebihan.

pengaduk, corong, *rotary* evaporator (IKA RV10), cawan porselin, penggaris, pipa kapiler, pipet ukur, pipet tetes, kain flanel, kertas saring (Whatman 40), aluminium foil teknis), aquades (Bratachem), metanol p.a, BAW, asam asetat glasial (Bratachem/Grade teknis), hexan (General Labora/ Grade teknis), toluen (Bratachem/Grade teknis), pereaksi Dragendorf.

Metode Sokletasi

Serbuk simplisia lada putih sebanyak 100 mg dibungkus dengan

kertas saring, kemudian dimasukkan ke dalam tabung ekstraksi pada *soxhlet*. Pelarut etil asetat sebanyak 300 ml dimasukkan ke dalam labu alas bulat. Kemudian *soxhlet* diletakkan di atas pemanas dan dibagian atas dihubungkan dengan pendingin (Kondensor) yang dialiri air. Proses ekstraksi dilakukan hingga pelarut yang merendam ekstrak terlihat bening tidak berwarna selama ± 5 jam. Filtrat yang diperoleh kemudian dievaporasi dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C dengan kecepatan 100 rpm.

pengadukan agar penyarian sempurna. Setelah 3 hari, maserat yang diperoleh disaring dengan menggunakan kain flanel untuk memisahkan ampas dan filtratnya. Selanjutnya, dilakukan maserasi kedua (remaserasi) menggunakan sisa pelarut selama 2 hari dengan proses yang sama dengan maserasi sebelumnya. Setelah 2 hari, maserat yang diperoleh dipisahkan antara ampas dan filtratnya. Filtrat yang diperoleh dari maserasi dan remaserasi dicampur, kemudian dievaporasi dengan menggunakan

Metode Maserasi

100 mg serbuk simplisia lada putih dimaserasi dengan 300 ml pelarut etil asetat (1:3). Pelarut tersebut dibagi menjadi 2 bagian, untuk maserasi tahap pertama digunakan pelarut sebanyak 75% dan untuk remaserasi (maserasi tahap kedua) sebanyak 25%. Maserasi tahap pertama dilakukan dengan merendam simplisia dalam pelarut selama 3 hari serta dilakukan

rotary evaporator pada suhu 50°C dengan kecepatan 100 rpm.

Isolasi Kristal Piperin

Ekstrak yang telah diperoleh kemudian disimpan dalam wadah yang terlindung dari sinar matahari selama 7 hari. Kristal yang terbentuk, kemudian dicuci dengan terlebih dahulu memisahkan kristal yang terbentuk dengan ekstrak. Kemudian, kristal dicuci menggunakan 20 ml etanol 96% dengan bantuan pengadukan. Etanol yang digunakan untuk mencuci kemudian dibuang. Pencucian dilakukan 3 kali hingga diperoleh kristal berwarna kuning.

Identifikasi Piperin dengan KLT

Identifikasi piperin dilakukan dengan menggunakan fase gerak dan fase diam yang mengacu pada penelitian Kolhe *et al* (2011). Fase diam yang digunakan adalah Silika Gel 60 F₂₅₄ dan eluen yang digunakan Identifikasi dengan KLT dilakukan dengan cara menotolkan kristal yang telah dilarutkan dengan etil asetat pada plat dengan bantuan pipa kapiler kemudian dielusi dengan fase gerak di dalam bejana tertutup rapat yang telah dijenuhkan dengan fase gerak tersebut. Elusi dihentikan pada saat fase gerak mencapai batas yang telah ditentukan yaitu 1 cm sebelum ujung akhir plat kemudian plat dikeluarkan dari bejana. Pengamatan bercak dilakukan dengan menggunakan sinar UV 254 nm dan Pereaksi Dragendorf.

Identifikasi Piperin dengan FTIR

Campur sampel dengan KBr kemudian masukan dalam wadah uji dan rekam spektra serapannya pada bilangan gelombang 500-4000 cm⁻¹.

Uji *In Silico*

a. Penyiapan senyawa marker

untuk identifikasi piperin adalah toluen: etilasetat dengan perbandingan 7:3 sedangkan untuk mengidentifikasi kemurnian piperin digunakan 3 fase yaitu asam glacial : hexana : etilasetat (0,3:3:1), hexana : etilasetat (4:1), BAW (4:1:5).

Senyawa marker yaitu piperin dibuat dengan menggunakan aplikasi Marvin Sketch-512.2 kemudian disimpan dengan format “.cdx”.

b. Preparasi Protein

Protein/reseptor target yang digunakan dalam penelitian ini adalah EGFR dengan PDB ID 1IVO. Data protein target diunduh dari *protein data bank* (www.rcsb.org). File protein target diunduh dalam format “.pdb” dengan tipe file gz. File yang telah diunduh kemudian dilakukan preparasi untuk menghilangkan komponen pengganggu sehingga tersisa 1 protein target dengan menggunakan aplikasi *Discovery Studio Visualizer*. Hasil preparasi disimpan dalam format PDB file (*.pdb).

c. Preparasi Ligand

Ligan yang digunakan dalam uji ini sebagai pembanding adalah

ligand dari senyawa Gefitinib. Data Ligan diunduh dari situs resmi <http://pubchem.ncbi.nlm.gov/> atau <http://www.drugbank.ca/>. File ligan diunduh dalam bentuk konformasi 3D dengan format SDF. File yang telah diunduh, dibuka dengan menggunakan DS Visualizer. Pada “show structure in 3D window” klik kanan kemudian klik gambar 3D kemudian disimpan dengan nama ligan dalam bentuk file PDB (*.pdb).

d. Preparasi Protein Target dan Ligan dalam Format PDBQT

Hasil preparasi protein dari langkah sebelumnya, dilakukan preparasi lebih lanjut menggunakan aplikasi AutoDockTools dengan menambahkan atom hidrogen polar untuk memberikan muatan partial (*partial charges*) dalam protein target tersebut. Selain itu target protein perlu ditambahkan muatan melalui

Proses ini diawali dengan memilih protein target dan ligan melalui pilihan *docking* pada aplikasi AutoDock Tools. Proses *docking* dapat dilakukan pengaturan melalui perintah *Search Parameters* dan *Docking Parameters*. Selanjutnya pada bagian *output* dipilih

pilihan *Kollman Charges* dan disimpan dalam format *.pdbqt.

Selanjutnya, dilakukan *input* ligan melalui perintah *Open Ligand* pada aplikasi AutoDock Tools. Ligan yang telah masuk kedalam protein target kemudian dilakukan preparasi dalam hal *Torsion Free* dan *Aromatic Carbons* dan disimpan dalam format *.pdbqt.

e. Preparasi Grid Parameter File

Aplikasi AutoDock Tools yang masih terbuka kemudian dipilih bagian *Grid* dan dipilih ligan melalui fungsi *Set Map Types* dan dilanjutkan penyiapan *Grid Box*. *Grid Box* merupakan penentuan area untuk simulasi *docking*. Kemudian hasil *grid* disimpan dalam format *grid parameter file* (*.gpf).

f. Preparasi Docking Parameter File

Lamarckian Genetic Algorithm dan disimpan dalam format *docking parameter file* (*.dpf).

g. Molecular Docking

File hasil preparasi sebelumnya yang meliputi *Target.pdbqt*, *Ligan.pdbqt*, *grid parameter file* (*.gpf), dan *docking*

parameter file (*.dpf) disimpan dalam satu *folder* pada Cygwin Terminal. Proses docking dilakukan menggunakan AutoGrid 4.2 dan AutoDock 4.2 melalui Cygwin Terminal. Untuk menjalankan aplikasi Autodock pada Linux, dilakukan dengan menekan “CTRL+ALT+T” kemudian diketik perintah ADT pada terminal lalu tekan enter.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Proses ekstraksi dilakukan dengan 2 metode yaitu metode sokletasi dan metode maserasi dengan dan didiamkan sampai terbentuk kristal piperin selama 7 hari. Kristal yang terbentuk dicuci dengan etanol 96% untuk menghilangkan zat-zat pengotor yang ada di permukaan

menggunakan pelarut yang sama yaitu etil asetat. Etil asetat digunakan sebagai pelarut penyari karena merupakan pelarut yang bersifat semi polar sehingga dapat menarik senyawa yang bersifat polar maupun nonpolar (Putri; Warditiani; Larasanty, 2013). Proses ekstraksi dilakukan terhadap 100 g serbuk simplisia dengan 300 ml etil asetat (1:3). Ekstrak cair yang diperoleh kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak yang lebih kental. Ekstrak kental disimpan dalam wadah tertutup kristal. Pencucian dilakukan 3 kali dengan 20 ml etanol hingga diperoleh kristal berwarna kuning keputihan. Hasil pencucian kristal dapat dilihat pada Gambar 1



Gambar 1. Hasil Pencucian Kristal

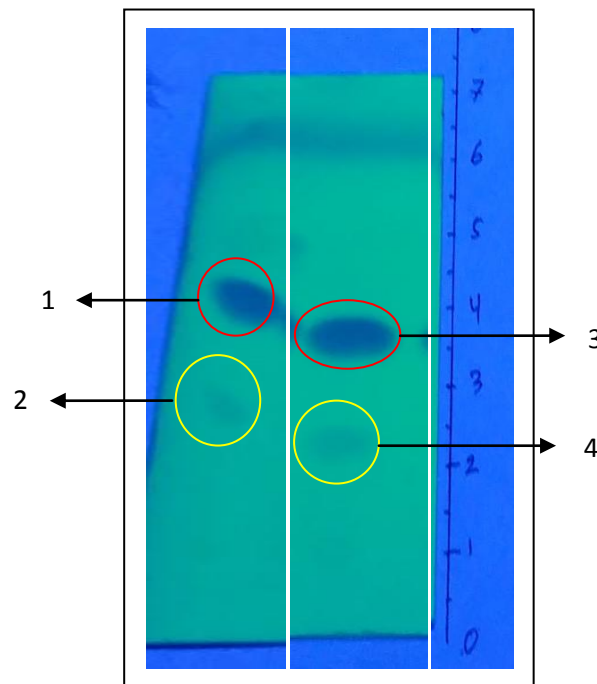
Pada ekstraksi dengan menggunakan metode sokletasi didapatkan rendaman kristal piperin lebih banyak dibandingkan ekstraksi dengan metode maserasi yaitu 0,96% sedangkan pada metode maserasi didapatkan 0,094%. Proses ekstraksi dipengaruhi oleh suhu, ukuran partikel, jenis pelarut, waktu ekstraksi dan metode ekstraksi (Istiqomah, 2013). Metode sokletasi merupakan suatu metode dengan pemanasan, pelarut yang digunakan akan mengalami sirkulasi dengan adanya pendingin balik sehingga terjadi ekstraksi kontinu (Istiqomah, 2013) sehingga ekstraksi dengan metode sokletasi lebih efektif sedangkan pada metode maserasi merupakan proses

ekstraksi yang dilakukan pada suhu kamar tanpa pemanasan (ICS-UNIDO, 2008).

Analisis dengan KLT digunakan untuk identifikasi keberadaan piperin dalam kristal yang diperoleh dan identifikasi kemurniannya. Untuk identifikasi piperin digunakan fase gerak (eluen) yaitu toluen:etilasetat (7:3) (Kolhe *et al*,2011). Plat KLT dibuat dengan panjang 7 cm dengan jarak elusidasi 5 cm. Deteksi bercak dilakukan dengan sinar UV 254, lempeng akan berfluoresensi dan bercak sampel akan tampak berwarna gelap. Hasil analisis dengan KLT dapat dilihat pada Gambar 2. Identifikasi piperin dalam kristal menggunakan KLT

dapat dilakukan dengan menghitung nilai Rf. Nilai Rf yang diperoleh dibandingkan dengan nilai Rf pada acuan dari penelitian Kolhe *et al* (2011) yaitu 0,55. Nilai Rf kristal piperin yang diperoleh dengan

metode sokletasi adalah 0,6 sedangkan untuk kristal piperin yang diperoleh dengan metode maserasi adalah 0,5. Hasil tersebut mendekati nilai Rf pada acuan

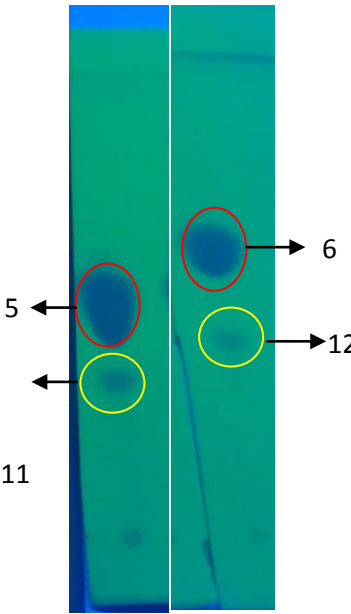
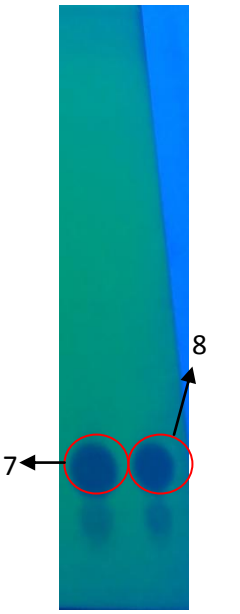
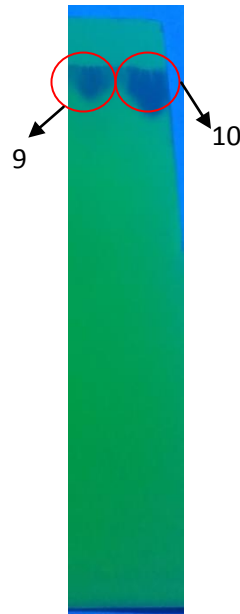


Gambar 2. Hasil KLT dengan eluen toluen:etil asetat (7:3)

Untuk identifikasi kemurnian kristal piperin yang diperoleh digunakan 3 Fase gerak yaitu asam glacial : hexana : etilasetat (0,3:3:1), hexana : etilasetat (4:1) dan BAW (4:1:5). Plat KLT dibuat dengan panjang 10 cm dengan jarak elusidasi 8 cm. Deteksi bercak dilakukan dengan sinar UV

254. Hasil identifikasi kemurnian kristal piperin dengan KLT dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Uji Kemurnian Piperin

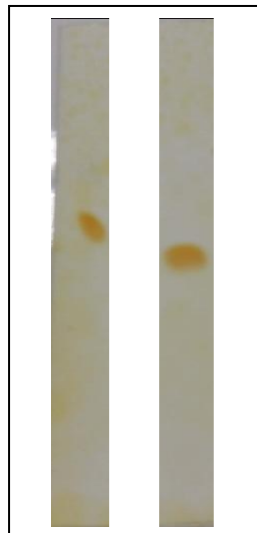
Fase Gerak	asam glacial : hexana : etilasetat (0,3:3:1)	gerak hexana : etilasetat (4:1)	BAW (4:1:5)
Hasil			

Fase diam yang digunakan adalah silika gel yang memiliki sifat polar (Abdul Rohman, 2007). Berdasarkan *material safety data sheet*, asam glacial memiliki sifat mudah larut dalam air, etil asetat lebih mudah larut dalam minyak sedangkan heksan bersifat nonpolar karena tidak larut dalam air. Pencampuran larutan tersebut akan menghasilkan larutan semi polar. Pada fase gerak asam glacial : hexana : etilasetat, bercak berada di tengah karena fase gerak yang digunakan

bersifat semipolar sedangkan pada fase gerak hexana : etilasetat, bercak berada di bawah disebabkan fase gerak yang digunakan bersifat nonpolar sehingga senyawa yang terkandung dalam kristal tertahan di fase diam. Berdasarkan *material safety data sheet*, butanol dan asam asetat bersifat semipolar namun kepolaran asam asetat lebih besar dibandingkan dengan butanol karena butanol mudah larut dalam dietil eter dan larut sebagian dalam air dingin dan air panas sedangkan

asam asetat lebih mudah larut dalam air. Pencampuran larutan tersebut akan menghasilkan larutan bersifat polar sehingga bercak berada diatas. Pada Gambar 7, nomor 5, 6, 7, 8, 9 dan 10 menunjukkan bercak senyawa piperin sedangkan nomor 11 dan 12 pada KLT dengan fase gerak asam glacial : hexana : etilasetat (0,3:3:1) menunjukkan adanya pengotor. Hasil

tersebut menunjukkan bahwa kristal piperin yang diperoleh tidak murni. Kemudian dilakukan penampakan bercak dengan pereaksi Dragendorf. Setelah disemprot dengan pereaksi Dragendorf terdapat bercak berwarna orange coklat (jingga) dilihat di bawah sinar tampak. Hasil penampakan bercak dapat dilihat pada Gambar 3.



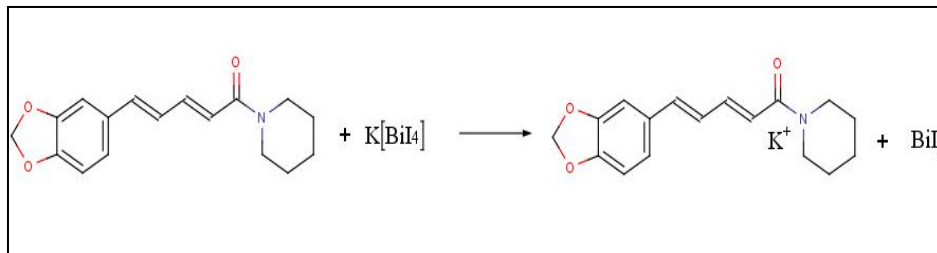
Gambar 3. Hasil Penampakan Dragendorf

Uji dengan pereaksi dragendorf memberikan hasil yang positif jika terbentuk endapan coklat muda sampai kuning (jingga) (Marliana *et al*, 2005). Hasil pada Gambar 7 tersebut menunjukkan bahwa kristal yang diperoleh merupakan alkaloid. Hasil penampakan bercak pada analisis

KLT dengan eluen toluen:etil asetat (7:3) menunjukkan bahwa pengotor yang terdapat dalam kristal piperin bukanlah golongan alkaloid. Hal tersebut disebabkan karena ketika dilakukan penampakan bercak dengan dragendorf bercak pengotor tidak tampak. Pada uji alkaloid dengan pereaksi dragendorf, nitrogen

membentuk ikatan kovalen koordinat dengan K^+ yang merupakan ion logam sehingga terbentuk endapan coklat muda sampai kuning (Marliana *et al*, 2005) sedangkan pada plat KLT

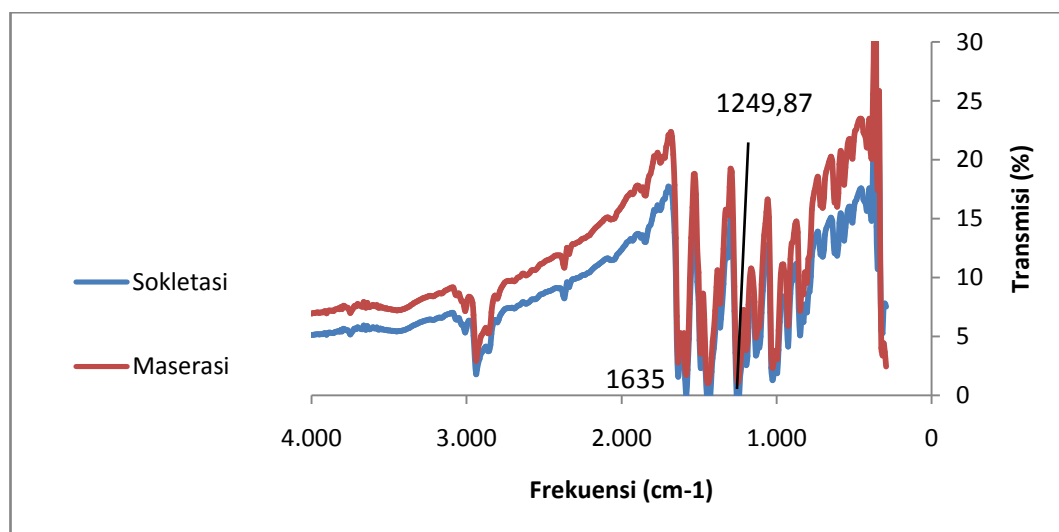
terbentuk bercak coklat muda sampai kuning. Reaksi antara piperin dengan pereaksi dragendorff dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Reaksi antara piperin dan dragendorff

Uji dengan FTIR dilakukan untuk mengidentifikasi kristal yang diperoleh berdasarkan gugus

fungsinya. Hasil uji dengan FTIR terhadap kristal yang diperoleh dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Grafik Spektroskopi FTIR

Spektra serapan yang diperoleh kemudian dianalisis dengan melihat data daerah gugus fungsi piperin dalam penelitian Swapna *et al* (2012). Pada Grafik hasil uji FTIR diatas panjang gelombang 1635 cm^{-1} menunjukkan ikatan simetrik dan asimetrik C=C dan -CO-N sedangkan panjang gelombang $1249,87\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan ikatan asimetrik =C-O-C. Hasil tersebut menunjukkan bahwa kristal yang diperoleh dengan metode sokletasi dan maserasi memiliki gugus fungsi yang mirip dengan gugus fungsi pada struktur piperin. Hal tersebut menandakan bahwa kristal yang diperoleh mengandung piperin.

Protein yang digunakan sebagai target adalah *Epidermal growth factor receptor* (EGFR). Protein tersebut digunakan sebagai target karena pada kasus kanker kolon 35-77% kasus disebabkan oleh ekspresi EGFR yang berlebihan. Ligan yang digunakan adalah piperin sebagai ligan uji dan Gefitinib serta

N-Acetyl-D-Glucosamine (Ligan asli) sebagai ligan pembanding. Gefitinib merupakan inhibitor EGFR. Respon gefitinib bergantung pada mutasi EGFR. Gefitinib mencegah phosphorilasi sehingga menghambat sinyal downstream dan memblok EGFR-dependent proliferasi (Mahipal, 2014). Nilai energi ikatan dan interaksi antara masing-masing ligan dengan protein target dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Energi ikatan

Ligan	Energi ikatan (kkl/mol)
Piperin	-3,82
Gefitinib	-4,16
N-Acetyl-D-Glucosamine (NAG 1032)	-3,75
N-Acetyl-D-Glucosamine (NAG 1151)	-3,75

Tabel tersebut menunjukkan bahwa gefitinib menghasilkan nilai energi ikatan yang terbaik karena memiliki energi ikatan paling rendah. Nilai energi ikatan piperin tidak jauh berbeda dengan nilai energi ikatan gefitinib sehingga piperin memiliki potensi untuk dikembangkan menjadi agen terapi kanker.

KESIMPULAN

1. Terdapat perbedaan jumlah rendemen kristal piperin dari lada putih yang diekstraksi menggunakan metode sokletasi dan maserasi dengan pelarut etil asetat. Pada ekstraksi dengan menggunakan metode sokletasi didapatkan rendemen hasil isolasi piperin lebih banyak dibandingkan ekstraksi dengan metode maserasi yaitu 0,96% sedangkan pada metode maserasi didapatkan 0,094%. Sifat fisika kimia piperin hasil ekstraksi metode sokletasi dan maserasi yang diidentifikasi dengan KLT dan FTIR menunjukkan hasil yang sesuai dengan acuan.

2. Piperin memiliki afinitas pada reseptor EGFR. Skor ikatan piperin tidak jauh berbeda dengan skor ikatan gefitinib yaitu -3,82 kkal/mol sedangkan skor ikatan gefitinib yaitu -4,16 kkal/mol. Sehingga piperine berpotensi untuk dikembangkan menjadi agen terapi kanker.

SARAN

1. Perlu dilakukan identifikasi lebih lanjut terhadap kristal isolat yang telah diperoleh.
2. Berdasarkan identifikasi yang telah dilakukan, perlu perbaikan metode isolasi piperin untuk mendapatkan piperin murni.

DAFTAR PUSTAKA

- Adosraku, R K., James, O K., Isaac, YA., 2013. CHARACTERIZATION AND HPLC QUANTIFICATION OF PIPERINE ISOLATED FROM *PIPER GUINEENSE* (Fam. PIPERACEAE). International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Vol 5, Issue 1, 2013 ISSN- 0975-1491
- Baselga J. 2002. *Why the epidermal growth factor receptor? the*

- rationale for cancer therapy*. The Oncologist. 2002;7(4):2-8.
- Brittain, Graham,.2009. *Using Melting Point to Determine Purity of Crystalline Solids*. (www.chem.uri.edu)
- Cunningham, D,. *Et al.* 2004. *Cetuximab Monotherapy and Cetuximab plus Irinotecan in Irinotecan-Refractory Metastatic Colorectal Cancer*. n engl j med 351;4 www.nejm.org July 22, 2004
- Hanahan, D and R A, Weinberg,. *Hallmarks of Cancer: The Next Generation Cell*. vol. 144, no. 5, pp. 646-674, 2011.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia.1986.Sediaan Galenik.Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2008. *Farmakope Herbal Indonesia Edisi 1*.Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- De Vita *et al.*, 2011. *CANCER: Principles & Practice of Oncology* 8th Edition. Wolters Kluwer Health, Lippincott Williams & Wilkins
- Ditjen POM. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Cetakan Pertama. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Fessenden, R.J,. Fessenden, J.S,.*Kimia Organik edisi ketiga jilid 1*.Jakarta: Erlangga
- International Centre for Science and High Technology-UNIDO,.2008.*Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants*. ICS-UNIDO
- Istiqomah.2013. *Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Soxletasi Terhadap Penetapan Kadar Piperin Buah Cabe Jawa (Piperis retrofracti fructus)*. Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah
- Jorissen, Robert,. *et al.*,2002. *Epidermal growth factor receptor: mechanisms of activation and signalling*. Experimental Cell Research 284 (2003) 31–53
- Joseph L, West CM. 2008.*Epidermal growth factor receptor-targeted therapy*. The British Journal of Radiology. 2008; 81:S36-S44.

- Karunakar, P. *Et al.*,2012. In silico docking analysis of piperine with cyclooxygenases. *J Biochem Tech*
- Kim,*et al.*2010.INDUCTION OF APOPTOSIS IN HT-29 HUMAN COLON CANCER CELLS BY THE PEPPER COMPONENT PIPERINE. *AGRIS* 2010 Vol.38 Issue 4
- Kolhe, Smita R., Priyanka, B., Urmi, P.,2011.EXTRACTION AND EVALUATION OF PIPERINE FROM *PIPER NIGRUM* LINN.*International Journal Of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*,Volume: 2: Issue-2: April-June -2011,ISSN 0976-4550
- Kroemer, R.T.2007. *Structure-Based Drug Design: Docking and Scoring*. *Current Protein and Peptide Science*, 2007, Vol.8, No.4, 312-328
- Kumar,S,. Et al. 2007. *Piperine inhibits TNF-alpha induced adhesion of neutrophils to endothelial monolayer through suppression of NF-kappaB and IkappaB kinase activation*. (2012)3(5):S122-127 ISSN: 0974-2328
- European Journal of Pharmacology Volume 575, Issues 1–3, 1 December 2007, Pages 177–186
- Laurina, Dina.,2008.*Isolasi Piperin dari lada hitam dan sintesis asam pipera serta uji aktivitasnya sebagai antibakteri Escherichia coli*.Perpustakaan Digital Universitas Negeri Malang (<http://library.um.ac.id>)
- Liu, Wei-Dong,. et al.,2014.*Effect of Bcl-xL gene expression silenced by RNA interference on invasion of human colorectal cancer cells*.*JBUON* 2014; 19 (4): 925-929,ISSN: 1107-0625, online ISSN: 2241-6293 (www.jbuon.com)
- Lynch and de la Chapelle. 2003. *Hereditary Colorectal Cancer*. *N Engl J Med*. 2003 Mar 6;348(10):919-32.
- Mahdi, Suzzan,. Yassir, Altikriti.,2010.*Extraction of Natural Product*. UPPSALA UNIVERSITET

- Mahipal, A., Nishi, K., Shilpa, G., 2014. *Epidermal Growth Factor Receptor Inhibitors: Coming of Age.* Cncer Control Journal the Moffitt Cancer Center, Januari 2014, Vol.21, No.1 (<http://autodock.scripps.edu/>)
dipublis 27 Februari 2013 13:4
- Murniaty, Dessy, 2011. Karakteristik Simplisia Isolasi serta Analisis Komponen Minyak Atsiri Lada Hitam dan Lada Putih (*Piper nigrum L.*) secara GC-MS. USU Institutional Repository (<http://repository.usu.ac.id/handle/123456789/24507>)
- 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, Februari 2005, ISSN: 1693-2242
- Morris. 2013. AutoDock. (Oltersdorf, et al., 2005. *An inhibitor of Bcl-2 family proteins induces regression of solid tumours.* Nature 2005 Jun 2;435(7042):677-81. Epub 2005 May 15
- Pavita, et al., 2000. Introduction to Spectroscopy Fourth Edition. Brooks/Cole Cengage Learning. Bellingham, Washington (*Garcinia mangostana L.*). Jurnal Farmasi Udayana Vol.2, No.4
- Purnomo, H., 2013. *Kimia Komputasi untuk Farmasi dan Ilmu Terkait.* Pustaka Pelajar, Yogyakarta.
- Rismunandar. 2007. *Lada Budidaya dan Tata Niaga.* Penebar Swadaya. Jakarta. hlm. 2-88.
- Putri, W. S., Warditiani, N. K., Larasanty, L. P. F. 2013. SKRINING FITOKIMIA EKSTRAK ETIL ASETAT KULIT BUAH MANGGIS Rohman, Abdul, 2007. *Kimia Farmasi Analisis. Pustaka Pelajar.* Yogyakarta
- Royal Society of Chemistry. 2009. *Ultraviolet-Visible Spectroscopy.* Royal Society of Chemistry

- Sastrohamidjojo, H. (1991). *Kromatografi*. Yogyakarta : Penerbit Liberty. Halaman 22-36.
- Seidel, V.,2012.Intial and Bulk Extraction. Methods in Biotechnology, Vol. 20, Natural Products Isolation, 2nd ed.
- Silverstein, M. Robert; Webster, X. Francis; Kiemle, J. David.2005. *Spectrometric Identification of Organic Compounds* 7th Ed. State University of New York : College of Environmental Science & Forest Shingate, P N., P P, Dongre,. D M, Kannu,.2013.NEW METHOD DEVELOPMENT FOR EXTRACTION AND ISOLATION OF PIPERINE FROM BLACK PAPPER. IJPSR Vol. 4 (8): 3165-170 E-ISSN: 0975-822; P-ISSN: 220-5148
- Stuart, B.,2004.INFRARED SPECTROSCOPY: FUNDAMENTALS AND APLICATIONS.Wiley
- Swapna, Depthi,.et al.2012.Isolatin, Identification and Antimycobacterial Evaluation of Piperine from Piper longum.Scholars Research Library,2012,4 (3) :863-868 ISSN 0975-5071
- Vasavirama, K.,Mahesh Upender. 2014.PIPERINE: A VALUABLE ALKALOID FROM PIPER SPECIES. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences ISSN- 0975-1491 Vol 6, Issue 4, 2014

