

# PENGARUH PEMBERIAN PIPERIN DAN FRAKSI TAK LARUT HEKSAN NON PIPERIN EKSTRAK ETANOLIK BUAH CABE JAWA (*Piper retrofractum* Vahl) TERHADAP PERILAKU SEKSUAL DAN KADAR TESTOSTERON TIKUS JANTAN

Siti Muslichah, Suwidjiyo Pramono, Sugiyanto  
Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta

## Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk melakukan isolasi piperin dari buah cabe jawa serta menguji pengaruh piperin serta fraksi tak larut heksan non piperin terhadap perilaku seksual dan kadar testosteron tikus jantan. Penelitian menggunakan 25 ekor tikus jantan galur Wistar. Piperin diberikan secara oral pada tikus dengan dosis 1,60 mg/kg bb, begitu juga dengan fraksi tak larut heksan non piperin 29,10 mg/kg bb, Andriol 0,72 mg tiap tikus, fraksi tak larut heksan total 31,72 mg/kg bb, serta CMC-Na 1%. Perilaku seksual diamati pada hari ke-0, 1, 3, 5, 7, 11, 15, 19, 23, dan hari ke 27. Pada akhir perlakuan, tikus yang sama diambil darahnya untuk pemeriksaan kadar testosteron. Data dianalisis secara statistik dengan ANOVA dilanjutkan dengan uji LSD dengan nilai signifikansi 0.05. Hasil penelitian menunjukkan pemberian Andriol, piperin, fraksi tak larut heksan non piperin, dan fraksi tak larut heksan total berpengaruh signifikan terhadap frekuensi introduction dibandingkan dengan kelompok yang dipejani CMC-Na%. Baik piperin maupun fraksi tak larut heksan non piperin dapat meningkatkan perilaku seksual (frekuensi climbing) namun diduga mekanisme keduanya berbeda. Terdapat kenaikan kadar testosterone pada pemberian fraksi tak larut heksan non piperin dibandingkan CMC-Na, namun tidak signifikan ( $p > 0,05$ ).

**Kata kunci :** *Piper retrofractum* Vahl, piperin, perilaku seksual, testosterone

## PENDAHULUAN

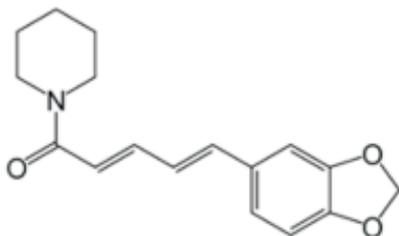
Masyarakat Indonesia telah lama menggunakan kekayaan alam sekitar sebagai obat tradisional. Obat asli Indonesia umumnya terdiri atas bahan atau ramuan bahan yang berasal dari tumbuhan di samping berasal dari hewan dan mineral (Sidik, 2010). Salah satu bahan yang sangat populer di masyarakat adalah jamu yang digunakan untuk meningkatkan libido baik pria maupun wanita.

Cabe jawa merupakan salah satu tanaman yang mempunyai potensi sebagai afrodisiak.

Cabe jawa digunakan sebagai afrodisiak karena mempunyai efek androgenic dan anabolik (Sya'roni, 1989). Ekstrak cabe jawa dosis 3,75 mg yang diberikan pada anak ayam mempunyai respon yang tidak berbeda nyata dengan pemberian metiltestosteron (Wahjoedi, 2004). Ekstrak cabe jawa juga dapat meningkatkan kadar testosterone pada pria hipogonad (Moeloek dkk, 2009).

Cabe jawa secara empiris digunakan oleh masyarakat sebagai analgetik, antipiretik, mencegah mual, stimulant, sakit gigi, lemah syahwat, dan lain-lain (Nuraini, 2003; Dalimarta,

1999; Muslisah, 2001). Kandungan minyak atsirinya berefek sebagai antibakteri, rasa pedas piperinnya menghangatkan dan melancarkan peredaran darah serta menyegarkan (Supriyadi, 2001). Selain itu piperin juga mempunyai efek antidepresan (Li et al, 2007), antikonvulsan dan relaksasi otot (Pei,1983).



Gambar 1. Struktur senyawa piperin

Penelitian Dwiprastowo (2010) menunjukkan bahwa fraksi tak larut heksan ekstrak etanolik cabe jawa berefek afrodisiak sementara fraksi heksannya tidak berefek. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi piperin dari fraksi tak larut heksan ekstrak etanolik cabe jawa dan melihat pengaruh dari piperin dan fraksi tak larut heksan non piperin terhadap perilaku seksual serta kadar testosteron darah tikus jantan. Dosis yang diberikan pada tikus adalah dosis dari penelitian Ikawati (2010) dikalikan rendemen hasil fraksinasi dan isolasi.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan

Simplisia cabe jawa berasal dari pengumpul di Pasar Brinjarjo yang mendapatkan kiriman dari petani di daerah Wonogiri. Senyawa pembanding piperin produksi Aldrich. Pelarut yang digunakan adalah etanol 95% dan heksan. Pengembangan untuk KLT adalah toluene:etil asetat berderajat pro analisis. Bahan kimia lain adalah KOH, anisaldehyd asam sulfat, vanillin asam sulfat, CMC-Na, Andriol (*Testosterone undecanoat*). *Testosterone kit* diproduksi oleh DRG Instruments GmbH Jerman.

Tikus putih jantan galur Wistar yang sehat dan belum pernah kawin sebelumnya, berumur 2,5-3 bulan dengan berat 150-250 gram dan tikus betina umur 2,5-3 bulan dengan berat 150-200 gram. Hewan uji diperoleh dari Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi Fakultas Farmasi UGM.

### Prosedur Penelitian

#### Identifikasi dan Isolasi

Identifikasi simplikasi buah cabe jawa dilakukan di Bagian Biologi Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Identifikasi ini untuk memastikan bahwa yang diteliti benar buah cabe jawa.

Serbuk buah cabe jawa 750 gram diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan 2 L etanol 95% selama 3 x 24 jam sambil diaduk setiap hari, lalu disaring, diulangi sekali lagi. Maserat dikumpulkan dan dipekatkan hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak etanolik difraksinasi dengan heksan. Fraksi yang larut heksan diambil, fraksi yang tidak larut heksan difraksinasi kembali dengan heksan sampai semua zat yang larut dalam heksan terpisah dengan baik. Fraksi tak larut heksan diuapkan hingga didapat fraksi kental tak larut heksan. Bagian yang tidak larut heksan ditambah KOH etanolik 10% lalu disaring. Filtrat didiamkan di almari es sampai terbentuk kristal, kristal yang terbentuk (piperin) di saring, dicuci dengan alkohol dingin, dikeringkan dalam almari pengering pada suhu 40<sup>0</sup> C selama 45 menit. Cairan sisa pembentukan kristal piperin diambil, dipekatkan, dan digunakan sebagai bahan uji (fraksi tak larut heksan non piperin). Piperin yang diperoleh dan fraksi tak larut non piperin di KLT, dieluasi dengan toluene : etil asetat (7:3) lalu dilihat di UV 254 dan 366 serta disemprot dengan anisaldehyd asam sulfat. Piperin juga diuji kemurniannya dengan HPLC.

#### Pengelompokan hewan dan Pemberian bahan uji

Tikus jantan sebanyak 25 ekor dibagi 5 kelompok masing-masing 5 ekor

tikus. Kelompok pertama dipejani Andriol dosis 0,72 mg/tikus yang dilarutkan dalam 2 ml cairan pembawa, kelompok kedua diberi 2 ml CMC-Na 1% , sementara kelompok 3,4, dan 5 berturut dipejani dengan piperin 1.60 mg/kg bb, fraksi tak larut heksan non piperin 29,10 mg/kg bb, dan fraksi tak larut heksan total 31,72 mg/kg bb. Pemberian bahan uji dilakukan secara p.o. sekali sehari pada jam 07.00-09.00.

### Pengamatan Perilaku Seksual

Tikus betina estrus dimasukkan ke dalam kotak yang digunakan untuk kawin setelah tikus jantan diadaptasikan selama 10 menit. Hewan uji diamati perilaku seksualnya pada hari ke 0,1, 3, 5, 7, 11, 15, 19, 23, dan 27 pada jam 18.00-20.00. Pengamatan dilakukan selama 1 jam, dicatat frekuensi *introduction* dimana tikus jantan mendekati tikus betina dan melakukan *kissing vagina* serta frekuensi *climbing* yaitu keadaan tikus jantan menindih tikus betina dari belakang baik ada atau tidak ada penetrasi.

### Pengukuran Kadar Testosteron

Pada akhir perlakuan darah tikus diambil sebanyak 2 ml dengan mikrohematokrit dari sinus orbitalis, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi heparin. Tabung reaksi tersebut kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm selama 10 menit untuk memisahkan serum dan sel-sel darahnya. Serum diambil sebanyak 1,5 ml untuk pengukuran kadar testosteron. Pengukuran kadar testosteron menggunakan metode ELISA. Prosedur berasal dari instruksi manual yang terdapat dalam testotestosterone kit. Plate disiapkan, testosteron standar (0, 0,2, 0,5, 1,0, 2,0, 6,0, 16,0 ng/ml) dan sampel dipipet sebanyak 25µl dimasukkan ke dalam sumuran. Ditambah *enzyme conjugate* sebanyak 200µl. Diinkubasi selama 60 menit pada suhu kamar. Plate dicuci sebanyak 3x menggunakan *washing buffer* @400 µl/sumuran. Ditambahkan larutan substrat sebanyak 200µl lalu diinkubasi selama 15 menit pada suhu kamar diruang gelap. Reaksi dihentikan dengan menambahkan larutan *stopper* sebanyak 100µl. Dibaca absorbansinya dengan alat *Elisa reader*

dengan panjang gelombang 450 nm. Intensitas warna yang dihasilkan berbanding terbalik dengan kadar testosteron. Kadar sampel dihitung dengan menggunakan kurva standar.

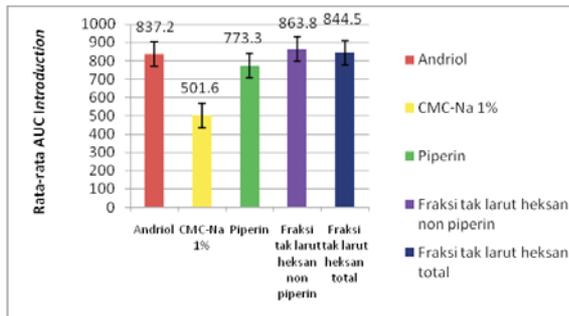
## HASIL DAN PENELITIAN

Data pengamatan perilaku seksual yaitu jumlah *introduction* dan *climbing* serta kadar testosteron disajikan dalam bentuk Mean  $\pm$ SE. Untuk perilaku seksual dibuat kurva frekuensi vs waktu lalu dianalisis menggunakan ANOVA dan dilanjutkan dengan uji LSD dengan taraf kepercayaan 95%.  $P < 0,05$  dianggap signifikan. Analisis statistik menggunakan SPSS versi 19, sementara grafik dibuat dengan menggunakan program excel.

Hasil penelitian piperin yang diperoleh dari hasil isolasi mempunyai kemurnian 93,56%. Piperin dan fraksi tak larut heksan non piperin diberikan secara p.o pada tikus jantan untuk mengetahui manakah dari keduanya yang mempunyai efek afrodisiak. Hasil tabulasi frekuensi *introduction* dan *climbing* digunakan untuk menghitung AUC masing-masing hewan uji yang selanjutnya digunakan untuk analisis statistik. Dari hasil statistik dapat dilihat bahwa data pengamatan *introduction* adalah normal dan homogen ( $>0,05$ ) sehingga bisa dilakukan uji Anava. Untuk pengamatan *introduction* nilai anava  $0,01 < 0,05$  jadi dilanjutkan dengan uji LSD. Dari hasil analisis, pemberian Andriol, piperin, fraksi tak larut heksan non piperin, dan fraksi tak larut heksan total terdapat perbedaan yang signifikan dengan CMC-Na 1% ( $p < 0,05$ ). Sementara tidak ada beda nyata antar kelompok yang lain ( $p > 0,05$ ). Sementara untuk *climbing* ada perbedaan yang signifikan antara pemberian piperin dengan fraksi tak larut heksan non piperin dan pemberian fraksi tak larut heksan non piperin dengan kontrol CMC-Na 1% ( $p < 0,05$ ). Untuk pengukuran kadar testosteron tidak ada perbedaan yang signifikan antara pemberian Andriol, piperin, fraksi tak larut heksan non piperin maupun fraksi tak larut heksan total dengan pemberin kontrol CMC-Na 1% dan antara kelompok perlakuan lainnya ( $p > 0,05$ ) dalam peningkatan kadar testosteron.

Efek afrodisiak dari ekstrak etanolik maupun ekstrak heksan buah cabe jawa telah diteliti yang menunjukkan hasil ekstrak etanolik berefek sebagai afrodisiak sementara ekstrak heksan tidak (Ikawati, 2007). Juga telah dilakukan penelitian menggunakan fraksi tak larut heksan dan fraksi larut heksan ekstrak etanolik buah cabe jawa yang hasilnya menguatkan penelitian tersebut, dimana fraksi tak larut heksan berefek afrodisiak sementara fraksi heksannya tidak berefek (Dwiprastowo, 2010).

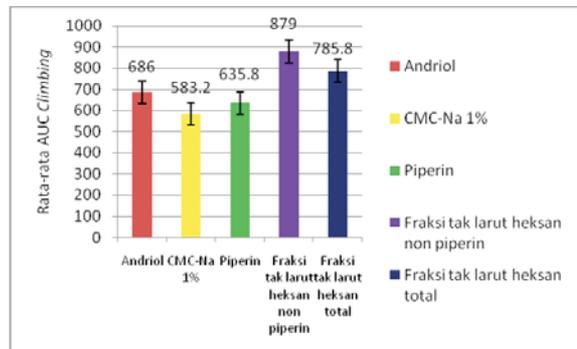
Berdasarkan penelitian tersebut kemudian dilakukan isolasi piperin yang merupakan salah satu kandungan dari buah cabe jawa yang diduga berefek afrodisiak dalam fraksi tak larut heksan. Kemudian piperin dan fraksi tak larut heksan non piperin diujikan pada tikus jantan untuk mengetahui mana yang berefek terhadap perilaku seksual dan kadar testosteron darah. Parameter perilaku seksual yang digunakan adalah *introduction* dimana tikus jantan mendekati tikus betina dan melakukan *kissing vagina*. Luas AUC menggambarkan keseluruhan efek selama pengamatan setelah pemberian bahan uji. Harga rata-rata AUC tiap kelompok disajikan dalam gambar 2.



**Gambar 2. Histogram rata-rata AUC *introduction* tikus jantan terhadap tikus betina pada pengamatan hari ke-0,1,3,5,7,11,15,19,23 dan 27 dengan 5 ekor tikus jantan tiap perlakuan**

Berdasarkan gambar 2 dapat dilihat bahwa pemberian fraksi tak larut heksan non piperin mempunyai harga rata-rata AUC tertinggi, yang

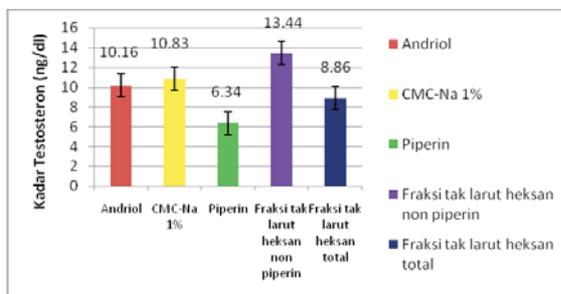
berarti fraksi ini memberikan efek paling besar terhadap terjadinya *introduction* yang ditandai dengan *kissing vagina*. Dalam fraksi tak larut heksan non piperin terdapat kandungan saponin. Seperti dilaporkan bahwa saponin pada tanaman dapat mengubah tingkat androgen yang didukung dengan meningkatnya kadar testosteron (Ghautaman, et al., 2002). Hal ini diperkuat dengan data kadar testosteron juga meningkat pada pemberian fraksi tak larut heksan non piperin seperti terlihat pada gambar 4. Peningkatan frekuensi *introduction* pada pemberian piperin kemungkinan mempunyai mekanisme berbeda dengan fraksi tak larut heksan non piperin. Piperin mempunyai efek antidepresan, vasodilator serta relaksan otot. Perilaku seksual tidak hanya dipengaruhi naiknya kadar testosteron namun juga mood seperti stress (Kumar et al., 2001), kecemasan (Rowland et al., 1987), *sedation* (Ratnasooriya & Dharmasiri, 2000). Oleh karena itu piperin dapat meningkatkan frekuensi *introduction* bukan karena meningkatnya kadar testosteron tapi karena aktifitas piperin yang memperbaiki *mood* serta meningkatkan aliran darah termasuk ke organ kelamin. Hal ini didukung dengan rendahnya kadar testosteron pada pemberian piperin (gambar 4). Dalam penelitian D'cruz (2005) pemberian piperin dengan dosis 10 mg/kg bb dapat menurunkan konsentrasi testosteron intratestikular.



**Gambar 3. Histogram rata-rata AUC *climbing* tikus jantan terhadap tikus betina pada pengamatan hari ke-0,1,3,5,7,11,15,19,23 dan 27 dengan 5 ekor tikus jantan tiap perlakuan**

Untuk rata-rata AUC *climbing* juga menunjukkan pola yang hampir sama dengan *introduction* dimana rata-rata tertinggi adalah pada pemberian fraksi tak larut heksan non piperin. Pada saat *climbing* ini kemungkinan tikus mengalami ereksi. Untuk terjadinya ereksi aliran darah yang lancar ke penis dan kadar testosteron yang adekuat. Seharusnya pada pemberian fraksi tak larut total dimana terdapat piperin dan saponin frekuensi *climbing* lebih banyak namun dari data di dapatkan frekuensinya lebih rendah daripada fraksi tak larut heksan non piperin. Hal ini kemungkinan karena piperin mempunyai efek menurunkan kadar testosteron jadi efek totalnya bukan sinergisme.

Meskipun secara statistik tidak terdapat perbedaan yang signifikan namun secara klinis terlihat kadar testosteron paling tinggi terjadi pada kelompok tikus yang dipejani fraksi tak larut heksan non piperin (gambar 4). Pemberian Andriol tidak menaikkan kadar testosteron melebihi normal. Hal ini kemungkinan karena diberikan pada tikus dengan kadar testosteron normal sehingga ketika diberikan testosteron dari luar sel Leydig tidak memproduksi testosteron sebagai umpan balik negatif. Sementara dalam tanaman saponin steroid dapat meningkatkan kadar testosteron melalui konversi bentuk steroid atau melalui stimulus terhadap LH.



Gambar 4. Histogram rata-rata kadar testosteron setelah pemberian bahan uji selama 27 hari dengan 5 ekor tikus jantan tiap perlakuan

## KESIMPULAN

Pemberian piperin dan fraksi tak larut heksan non piperin masing-masing dapat meningkatkan frekuensi *introduction* maupun *climbing* dengan mekanisme yang berbeda. Piperin dapat memperbaiki *mood* dan berefek vasodilator sehingga bisa meningkatkan libido, meskipun pemberian piperin menyebabkan penurunan kadar testosteron, sementara fraksi tak larut heksan non piperin yang mengandung saponin dapat meningkatkan kadar testosteron yang juga dapat meningkatkan perilaku seksual.

## DAFTAR PUSTAKA

- Bang, J.S., Oh, D.H., Choi, H.M., Sur, B.J., Lim, S.J., Kim, J.Y., Yang, H.I., Yoo, M.C., Hahm, D.H., and Kim, K.S., 2009, Anti-inflammatory and antiarthritic effects of piperine in human interleukin 1 $\beta$ -stimulated fibroblast-like synoviocytes and in rat arthritis models, *Arthritis Research & Therapy* 2009, 11:R49, <http://arthritis-research.com/content/11/2/R49>
- Dalimartha, S., 1999, *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid I*, 25-28. Jakarta.
- D'cruz, S.C., Mathur, P.P., 2005, Effect of piperine on the epididymis of adult male rats, *Asian J Androl* 2005; 7 (4): 363–368.
- Dwiprastyo, T., 2010, Pengaruh Pemberian Berulang Fraksi Heksan dan Fraksi Tak Larut Heksan Ekstrak Etanolik Cabe Jawa (*Piper retrofractum* Vahl) terhadap Efek Aprodisiaka Tikus Jantan, *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada.
- Gauthaman K., Adaikan, P.G., Prasad, N.R.V., 2002, Aphrodisiac Properties of Tribulus terrestris extract (protodioscin) in normal and castrated rats, *Life Sciences*, vol 71, no 12, pp.1385-1396.
- Li, S., Wang, C., Wang, M., Li, W., Matsumoto, K., Tang, Y., 2007, Antidepressant like effects of piperine in chronic mild stress

- treated mice and its possible mechanisms, *Life Sciences* 80 (2007) 1373–1381.
- Moeloek. N, Lestari, S.W, Yurnadi, dan Wahjoedi. B, 2009, Uji Klinik Ekstrak Cabe Jawa (*Piper retrofractum* Vahl) Sebagai Fitofarmaka Androgenik Pada Pria Hipogonad, *Laporan Penelitian*, Departemen Biologi Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta.
- Muslisah, F., 2001, *Tanaman Obat Keluarga*, 14-16, Penebar Swadaya.
- Nuraini, A., 2003, *Mengenal Etnobotani Beberapa Tanaman yang Berkhasiat Sebagai Aprodisiaka*, InfoPOM, Vol IV, Ed 10, BADAN POM R.I., Jakarta.
- Sa'roni, Pudjiastuti, Adjirni, 1989, Penelitian efek androgenik dan anabolik buah cabe jawa. *Cermin Dunia Kedokteran* 1989;59:22-24.
- Sidik, 2010, Etnofarmakognosi dan Kimia Tumbuhan Afrodisiak, <http://www.isfinational.or.id/sarana-kefarmasian.html> [22 Oktober 2010].
- Wahjoedi B, Pudjiastuti, Adjirni, Nuratmi B, Astuti Y., 2004, Efek androgenik ekstrak etanol cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl.) pada anak ayam. *Jurnal Bahan Alam Indonesia* 2004; 3(2):201-204.