

## STUDI IN SILICO SENYAWA ANTIOKSIDAN ALAMI GOLONGAN STEROID PADA RESEPTOR SISTEM REPRODUKSI

Dina Pratiwi<sup>1</sup>, M. Insanu<sup>2</sup>, dan Sophi Damayanti<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Sekolah Tinggi Farmasi Muhammadiyah Tangerang

<sup>2</sup>Sekolah Farmasi Institut Teknologi Bandung

[dinapratiwi@stfm.ac.id](mailto:dinapratiwi@stfm.ac.id)

### ABSTRACT

Antioxidants are substances that may protect food from the oxidation process. The use of synthetic antioxidants has been debated due to their negative effects. Natural antioxidant derived from plants sterol could be potential compounds as alternative food additives. However, not many studies on the toxicological effect of natural antioxidants. This study aimed to obtain toxicity prediction of natural antioxidant compounds using insilico method and analysis of their interaction with receptor by molecular docking method. This study used six natural antioxidant compounds from plants sterol derived, there are  $\Delta^5$ -avenasterol,  $\Delta^7$ -avenasterol,  $\beta$ -sitosterol, brassicasterol, campesterol, and stigmasterol. All compound were predicted by ADMET Predictor, Toxtree, and QSAR Toolbox software, while the docking process used Autodock 4.2.6 software. The result of toxicity prediction showed that six compounds were predicted toxic to reproductive system by ADMET Predictor software. The results of docking analysis with the androgen (2AM9), estrogen (1A52), and progesterone (1A28) receptor showed that  $\Delta^7$ -avenasterol and  $\beta$ -sitosterol had lower free binding energy than estradiol and progesterone as comparator ligands on the estrogen alpha and progesterone receptor.

**Keywords:** molecular docking, toxicity prediction, steroid

### ABSTRAK

Antioksidan merupakan zat yang mampu melindungi pangan dari proses oksidasi. Penggunaan antioksidan sintetik telah menjadi perdebatan dikarenakan efek negatif yang ditimbulkannya. Antioksidan alami yang berasal dari tumbuhan dapat menjadi senyawa yang potensial sebagai bahan tambahan pangan alternatif. Namun belum banyak penelitian mengenai efek toksik dari antioksidan alami. Penelitian ini dilakukan untuk memperoleh prediksi toksisitas senyawa antioksidan alami menggunakan metode *in silico* dan analisis interaksinya dengan reseptor melalui metode *molecular docking*. Senyawa antioksidan alami yang digunakan adalah enam senyawa antioksidan alami golongan steroid yang berasal dari tumbuhan yaitu  $\Delta^5$ -avenasterol,  $\Delta^7$ -avenasterol,  $\beta$ -sitosterol, brasikasterol, kampesterol, dan stigmasterol. Semua senyawa diprediksi toksisitasnya menggunakan perangkat lunak ADMET predictor, Toxtree, dan QSAR Toolbox, sedangkan proses *docking* dilakukan menggunakan

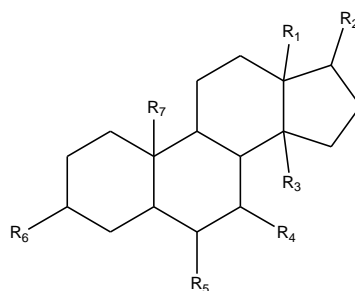
perangkat lunak Autodock 4.2.6. Hasil prediksi toksisitas menunjukkan bahwa enam senyawa tersebut diprediksi toksik terhadap sistem reproduksi. Hasil analisis *docking* terhadap reseptor androgen (2AM9), estrogen (1A52), dan progesteron (1A28) yang diperoleh dari Protein Data Bank (PDB) menunjukkan bahwa senyawa  $\Delta^7$ -avenasterol dan  $\beta$ -sitosterol memiliki energi bebas ikatan yang lebih rendah dibandingkan dengan estradiol dan progesteron sebagai senyawa pembanding pada reseptor estrogen alfa dan progesteron.

**Kata Kunci:** molecular docking, prediksi toksisitas, steroid tumbuhan

## PENDAHULUAN

Sterol adalah senyawa organik yang terdiri dari 17 atom karbon dan memiliki karakteristik tiga dimensi yang membentuk empat buah cincin. Sterol merupakan alkohol steroid yang berasal dari bahasa Yunani yaitu *stereon* dan diakhiri dengan akhiran *-ol* untuk alkohol (Gul dan Amar, 2006).

Tumbuhan memiliki lebih dari 40 sterol yang dinamakan fitosterol dan banyak terdapat pada minyak biji tumbuhan. Sereal merupakan sumber fitosterol yang tertinggi, sedangkan kandungan fitosterol dalam sayuran dan kacang-kacangan jauh lebih rendah (Piironen *et al.*, 2000). Fitosterol yang paling banyak ditemukan dalam tumbuhan yaitu  $\Delta^5$ -avenasterol,  $\Delta^7$ -avenasterol,  $\beta$ -sitosterol, brasikasterol, kampesterol, dan stigmasterol (Pokorny *et al.*, 2001).



**Gambar 1.** Struktur senyawa golongan fitosterol

**Tabel 1.** Gugus fungsi pada senyawa golongan fitosterol

Senyawa	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>	R <sub>7</sub>
$\Delta^5$ -avenasterol	CH <sub>3</sub>	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>	H	H, H	H	OH	CH <sub>3</sub>
$\Delta^7$ -avenasterol	CH <sub>3</sub>	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>	H	H	H, H	OH	CH <sub>3</sub>
$\beta$ -sitosterol	CH <sub>3</sub>	C <sub>10</sub> H <sub>15</sub>	H	H, H	H	OH	CH <sub>3</sub>
Brasikasterol	CH <sub>3</sub>	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>	H	H, H	H	OH	CH <sub>3</sub>
Kampesterol	CH <sub>3</sub>	C <sub>9</sub> H <sub>12</sub>	H	H, H	H	OH	CH <sub>3</sub>
Stigmasterol	CH <sub>3</sub>	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>	H	H, H	H	OH	CH <sub>3</sub>

**Tabel 2.** Kandungan sterol dalam sereal dan minyak yang berasal dari biji tumbuhan (Pokorny *et al.*, 2001)

Senyawa	Sumber antioksidan				
	Kanola	Jagung	Biji kapas	Kacang kedelai	Bunga matahari <sup>2</sup>
total rata-rata sterol (ppm)	673	8668	3745	2359	2587
Sterol spesifik (%)					
Brasikasterol	10	-	-	-	-
Kampesterol	33	19	7	21	8
$\beta$ -sitosterol	57	67	89	21	7
stigmasterol	-	4	1	49	61
$\Delta^5$ -avenasterol	-	5	2	2	5
$\Delta^7$ -avenasterol	-	1	1	2	3

Keterangan: - tidak ada

Laporan terbaru tentang dampak fitosterol pada stabilitas termal dan oksidatif minyak goreng yang dicampur dengan fitosterol, meliputi: 3,8% brasikasterol, 26,9% kampesterol, 0,6% kampestanol, 17,2% stigmasterol, 48,2%  $\beta$ -sitosterol, 1,1% sitostanol, 1,3%  $\Delta^5$ -avenasterol, dan 0,8%  $\Delta^7$ -stigmasterol, ditemukan secara signifikan menurunkan polimerisasi pada minyak kedelai dan minyak bunga matahari selama pemanasan pada suhu tinggi (Winkler & Warner, 2008). Efek antioksidan  $\beta$ -sitosterol, stigmasterol, dan kampesterol terhadap peroksidasi lipid yang dibandingkan dengan 2,2,5,7,8-pentamethyl-6-chromanol (PMC) menunjukkan bahwa senyawa-senyawa tersebut memberikan efek antioksidan pada oksidasi metil linoleat dalam larutan (Yoshida dan Nikki, 2003). Studi secara teoritis mengenai oksidasi sterol menunjukkan bahwa entalpi disosiasi ikatan O-H dan C-H merupakan tempat serangan oksidasi seperti pada senyawa  $\Delta^5$ -avenasterol dan  $\Delta^7$ -avenasterol (Lengyel *et al.*, 2012).

Sterol selain memiliki aktivitas antioksidan juga dapat menurunkan kolesterol dalam dosis yang efektif, tetapi dalam asupan yang lebih tinggi dapat menyebabkan efek yang tidak diinginkan. Oleh karena itu untuk menghindari efek negatif tersebut asupan sterol yang disarankan oleh *Scientific Committee on Food* (2002) tidak melebihi 3 g/hari.

Hormon yang berperan dalam sistem reproduksi baik pada pria maupun wanita yaitu hormon androgen, estrogen, dan progesteron yang dihasilkan oleh gonad dan diatur oleh kelenjar endokrin. Ketiga hormon tersebut berpengaruh terhadap pertumbuhan, perkembangan serta mengatur siklus reproduksi dan perilaku seks (Campbell *et al.*, 2004). Menurut *National Institute of Environmental Health Sciences* (2010), adanya gangguan pada kelenjar endokrin dapat menyebabkan abnormalitas pada organ reproduksi dan menurunkan kesuburan pria; permasalahan pada reproduksi wanita meliputi masalah kesuburan dan pubertas dini; memicu kanker payudara,

ovarium, dan prostat; meningkatkan penyakit imun dan autoimun, serta beberapa penyakit neurodegeneratif. Salah satu zat yang dapat menyebabkan gangguan pada endokrin yaitu zat yang memiliki aktivitas hormon seperti fitoestrogen yang terdapat pada tumbuhan.

Metode toksikologi *in silico* menunjukkan kegunaan dalam menghasilkan informasi toksisitas suatu senyawa. Toksikologi *in silico* dapat membantu mengidentifikasi toksisitas senyawa agar dapat dilakukan pemilihan calon senyawa untuk dioptimasi dan dikembangkan sebagai bahan tambahan pangan yang potensial (Valerio, 2009; Reisfeld dan Mayeno, 2012). Worth *et al.* (2011) membuat laporan mengenai penggunaan metode komputasi untuk penilaian toksikologi zat kimia dalam makanan, baik prospeknya saat ini maupun dimasa yang akan datang.

Antioksidan merupakan zat yang mampu melindungi pangan dari proses oksidasi. Penggunaan antioksidan sintetik telah menjadi perdebatan dikarenakan efek negatif yang ditimbulkannya. Antioksidan alami golongan steroid yang berasal dari tumbuhan dapat menjadi senyawa yang potensial sebagai bahan tambahan pangan alternatif. Namun belum banyak penelitian mengenai efek toksik dari antioksidan alami golongan steroid. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh prediksi toksisitas senyawa antioksidan alami golongan steroid menggunakan metode *in silico* dan analisis interaksinya dengan reseptor melalui metode *molecular docking*.

## BAHAN DAN METODE

Senyawa uji antioksidan alami yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari data eksperimental beberapa penelitian ilmiah mengenai potensi senyawa dan ekstrak tumbuhan sebagai bahan tambahan pangan antioksidan alami (Pokorny *et al.*, 2001). Senyawa uji antioksidan alami yang digunakan antara lain  $\Delta^5$ -avenasterol,  $\Delta^7$ -avenasterol,  $\beta$ -sitosterol, brasikasterol, kampesterol, dan stigmasterol. Prediksi toksisitas senyawa antioksidan alami meliputi prediksi mutagenitas, karsinogenitas, toksisitas reproduksi, toksisitas akut dan toksisitas kronik. Kemudian dilakukan analisis *molecular docking* menggunakan reseptor androgen (kode PDB: 2AM9), reseptor estrogen alfa (kode PDB: 1A52), dan reseptor progesteron (kode PDB: 1A28). Data struktur 3D kristal reseptor yang digunakan untuk analisis *molecular docking* diperoleh dari *Protein Data Bank* (PDB) dengan situs <http://www.rcsb.org/pdb/>.

Perangkat keras yang digunakan dalam penelitian ini adalah komputer server CPU XEON, 64 GB RAM, *Windows Server Operating System* dan *Notebook* dengan CPU Intel Core i5-4200U 1,6 GHz, RAM 4 GB, *Windows 7 64 bit Operating System*. Perangkat lunak yang digunakan antara lain T.E.S.T versi 4.1, Toxtree, ADMET predictor versi 7.0.0004, QSAR Toolbox versi 3.2, Chem Office 2004 versi 8.0.3, Hyperchem versi 8.03, Open Babel 2.2.3, Autodock 4.2.6, dan AutodockTools-1.5.6rc3.

### **Pembuatan struktur 3 dimensi senyawa uji**

Ligan atau senyawa uji antioksidan alami yaitu  $\Delta^5$ -avenasterol,  $\Delta^7$ -avenasterol,  $\beta$ -sitosterol, brasikasterol, kampesterol, dan stigmasterol dibangun menggunakan perangkat lunak Chem Office 2004 (ChemDraw dan Chem 3D Ultra). Kemudian dilakukan optimasi geometri menggunakan Hyperchem versi 8.03 dengan metode Semi Empirik (PM3).

### **Prediksi toksisitas senyawa**

Prediksi toksisitas dilakukan dengan menggunakan beberapa perangkat lunak, yaitu Toxtree, ADMET predictor versi 7.0.0004, dan QSAR Toolbox versi 3.2. Prediksi toksisitas senyawa yang dilakukan meliputi uji toksisitas akut, toksisitas kronik, mutagenitas, karsinogenitas, dan toksisitas terhadap sistem reproduksi. Prediksi toksisitas akut dilakukan menggunakan perangkat lunak ADMET predictor dengan hasil berupa nilai LD<sub>50</sub>. Prediksi mutagenitas senyawa uji dilakukan menggunakan perangkat lunak Toxtree dengan metode *In vitro mutagenicity (Ames Test) alerts by ISS*. Prediksi karsinogenitas senyawa uji dilakukan menggunakan perangkat lunak Toxtree dengan metode *Carcinogenicity (genotox and nongenotox) and mutagenicity rulebase by ISS* dan *DNA binding alerts*. Prediksi toksisitas reproduksi dilakukan menggunakan perangkat lunak ADMET predictor dengan metode 2D dan 3D. Prediksi toksisitas kronik dilakukan menggunakan perangkat lunak OECD QSAR Toolbox dengan *Repeated Dose (HESS)* sebagai *Category Definition* dan *(Q)SAR models* sebagai *Data Gap-Filling*. Hasil prediksi toksisitas kronik berupa nilai NOEL yang kemudian dapat dihitung nilai *Acceptable Daily Intake (ADI)* melalui pembagian nilai NOEL dengan *safety factor* sebesar 100.

### **Persiapan reseptor**

Reseptor yang digunakan diunduh dari *Protein Data Bank*. Reseptor yang berupa makromolekul protein dipisahkan dari molekul lain yang tidak diperlukan beserta ligannya. Pemisahan dilakukan menggunakan AutodockTools-1.5.6rc3. Optimasi dilakukan dengan penambahan atom hidrogen dan *Kollman charges*.

### **Validasi metode docking**

Validasi metode *docking* dilakukan dengan metode *redocking* menggunakan ligan ko-kristal yang terdapat pada masing-masing reseptor yang diunduh dari *Protein Data Bank*. Parameter yang digunakan untuk menilai validitas yaitu nilai RMSD yang merupakan nilai simpangan posisi ruang ligan hasil *docking* dibandingkan dengan posisi ligan hasil kristalografi.

### **Proses docking**

Pengaturan *grid box parameter* dilakukan menggunakan AutodockTools-1.5.6rc3. Dimensi ditentukan berdasarkan ukuran masing-masing ligan dan koordinat *grid box* ditentukan berdasarkan koordinat ligan ko-kristal dari file reseptor yang

digunakan. Parameter yang digunakan yaitu *Genetic algorithm* dengan jumlah *GA runs* sebanyak 10 kali. Satu kali proses *docking* menghasilkan 10 pose sehingga hasil akhir *docking* diperoleh sebanyak 100 pose.

### Analisa hasil *docking*

Penentuan konformasi ligan hasil *docking* (pose terbaik) dilakukan dengan memilih konformasi ligan yang memiliki energi ikatan paling rendah. Hasil *docking* dengan pose terbaik kemudian dianalisa menggunakan Autodock 4.2.6. Parameter yang dianalisa meliputi residu asam amino, ikatan hidrogen, konstanta inhibisi prediksi, dan energi bebas ikatan.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Prediksi toksisitas

Senyawa antioksidan alami golongan steroid yang berasal dari tumbuhan yaitu  $\Delta^5$ -avenasterol,  $\Delta^7$ -avenasterol,  $\beta$ -sitosterol, brasikasterol, kampesterol, dan stigmasterol diprediksi sifat toksisitas akut, toksisitas kronik, mutagenitas, karsinogenitas, dan toksisitasnya terhadap sistem reproduksi. Hasil prediksi toksisitas seperti yang terlihat pada tabel 2 menunjukkan bahwa senyawa-senyawa antioksidan alami golongan steroid tersebut memiliki sifat toksik terhadap sistem reproduksi.

**Tabel 3.** Hasil prediksi toksisitas senyawa fitosterol secara *in silico*

Senyawa	LD <sub>50</sub> p.o. pada tikus (mg/kgBB)	Mutagenitas	Karsinogenitas	Toksitas reproduksi	ADI (mg/kgBB hari)
$\Delta^5$ -avenasterol	816,32	-	-	+	1,50
$\Delta^7$ -avenasterol	817,00	-	-	+	4,87
$\beta$ -sitosterol	961,33	-	-	+	1,25
brasikasterol	786,56	-	-	+	1,39
kampesterol	1029,68	-	-	+	1,38
stigmasterol	738,22	-	-	+	1,03

Keterangan: toksik (+), tidak toksik (-)

Nilai ADI yang diperoleh dari hasil prediksi menunjukkan bahwa senyawa-senyawa antioksidan alami golongan steroid yang diuji berada pada rentang 0,71-7,60 sedangkan ADI untuk kelompok fitosterol, fitostanol dan esternya menurut *Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives* (WHO, 2009) yaitu berada pada kisaran 0-40 mg/kg berat badan yang dinyatakan sebagai jumlah dari fitosterol dan fitostanol dalam bentuk bebas, berdasarkan keseluruhan nilai NOAEL, dengan faktor keamanan yaitu 100. Faktor keamanan ini menggabungkan faktor 10 untuk perbedaan antarspesies dan faktor 10 untuk perbedaan intraspecies.

### Validasi Metode *Docking*

Validasi metode *molecular docking* dilakukan dengan metode *redocking* yaitu melakukan *docking* kembali ligan ko-kristal dengan reseptor pada *binding site* yang

digunakan untuk proses *molecular docking*. Validasi metode *molecular docking* dilakukan menggunakan perangkat lunak Autodock 4.2.6. Parameter validasi untuk *docking* dinyatakan dengan nilai RMSD (*Root Mean Square Deviation*) yaitu nilai yang menunjukkan tingkat penyimpangan hasil *docking* ligan terhadap ligan hasil kristalografi pada *binding site* yang sama. Reseptor yang digunakan dinyatakan valid apabila nilai RMSD lebih kecil atau sama dengan 2 Å (Kontoyianni *et al.*, 2004). Hasil validasi pada tabel V.4 menunjukkan bahwa semua reseptor yang digunakan memiliki nilai RMSD < 2 Å. Hasil validasi tersebut menunjukkan bahwa protokol *docking* yang digunakan valid dan dapat digunakan untuk proses *docking* senyawa uji.

**Tabel 4.** Hasil validasi reseptor menggunakan metode *redocking*

PDB ID	Reseptor	RMSD (Å)	Energi bebas ikatan (kcal/mol)	Ki (nM)	Residu	Ikatan hidrogen
2AM9	androgen	0,501	-11,59	3,17	701LEU, 704LEU, 705ASN, 707LEU, 711GLN, 745MET, 752ARG, 873LEU, 876PHE, 877THR, 780MET	O-O 705 ASN, O-N 711GLN
1A52	estrogen $\alpha$	0,891	-10,6	17,04	53GLU, 384LEU, 387LEU, 388MET, 391LEU, 424ILE, 428LEU, 521GLY, 525LEU, 542HIS	O-O 353GLU, O-N 524HIS
1A28	progesteron	0,428	-12,37	0,85	719ASN, 725GLN, 759MET, 778PHE, 797LEU, 801MET, 890TYR, 894THR	O-O 725GLN

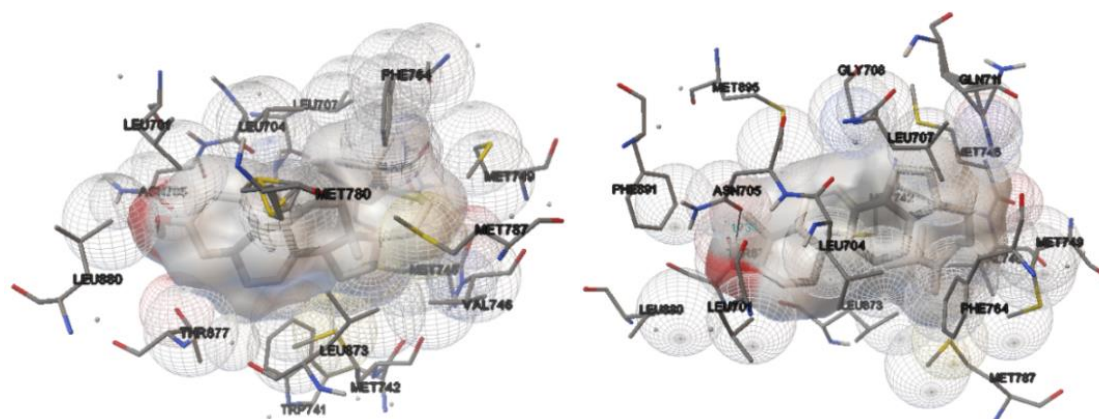
### Analisis *docking*

#### Reseptor androgen

Energi bebas ikatan testosteron sebagai ligan pembanding lebih rendah dari senyawa  $\Delta^7$ -avenasterol dan  $\beta$ -sitosterol (tabel 5). Hal itu menunjukkan bahwa kedua senyawa tersebut tidak dapat berkompetisi dengan ligan alami reseptor tersebut untuk dapat berikatan. Pada senyawa  $\beta$ -sitosterol terdapat ikatan hidrogen antara atom O pada gugus OH dengan atom O pada residu asam amino ASN (asparagin) 705 dengan jarak 1,736 Å, sedangkan pada  $\Delta^7$ -avenasterol tidak terdapat ikatan hidrogen. Interaksi yang terjadi antara senyawa  $\Delta^7$ -avenasterol dan  $\beta$ -sitosterol dengan reseptor terlihat dari adanya residu asam amino. Residu asam amino yang berdekatan dan memiliki kemiripan dengan senyawa ligan pembanding yaitu 701LEU, 705ASN, 711GLN, 873LEU, dan 877THR.

**Tabel 5.** Hasil *docking* senyawa fitosterol pada reseptor androgen

Senyawa	Residu asam amino	Energi bebas ikatan (kkal/mol)	Ki (nM)	Ikatan Hidrogen
Testosteron	LEU701, LEU704, ASN705, LEU707, GLN711, MET745, ARG752, MET780, LEU873, PHE876, THR877	-11,59	3,17	O-O 705ASN (2,133Å), O-N 711GLN (2,046Å)
$\Delta^5$ -avenasterol	LEU704, GLY708, TRP741, MET742, VAL745, VAL746, PHE764, PHE770, MET780, LEU873, 895MET	196,35	-	-
$\Delta^7$ -avenasterol	LEU701, LEU704, ASN705, GLY708, GLN711, VAL740, TRP741, MET742, VAL746, MET749, PHE764, MET780, MET787, LEU873, THR877 LEU880, PHE891	-11,31	5.14	-
$\beta$ -sitosterol	LEU701, ASN705, LEU707, GLY708, GLN711, MET742, MET745, VAL746, MET749, PHE764, MET787, LEU873, THR877, LEU880, PHE891, MET895, ILE899	-9,20	181.9	O-O 705ASN (1,736Å)
Brasikasterol	LEU704, GLY708, TRP741, MET742, MET745, VAL746, PHE764, PHE770, MET780, MET895	338,28	-	-
Kampesterol	LEU704, LEU707, GLY708, TRP741, MET742, MET745, VAL746, PHE764, PHE770, MET780, MET787, LEU873, MET895	222,95	-	-
Stigmasterol	LEU701, LEU704, ASN705, GLY708, LEU712, TRP741, MET742, MET745, PHE764, MET780, MET895	159,80	-	-

**Gambar 2.** Hasil *docking* senyawa  $\Delta^7$ -avenasterol dan  $\beta$ -sitosterol pada reseptor androgen

### Reseptor estrogen alfa

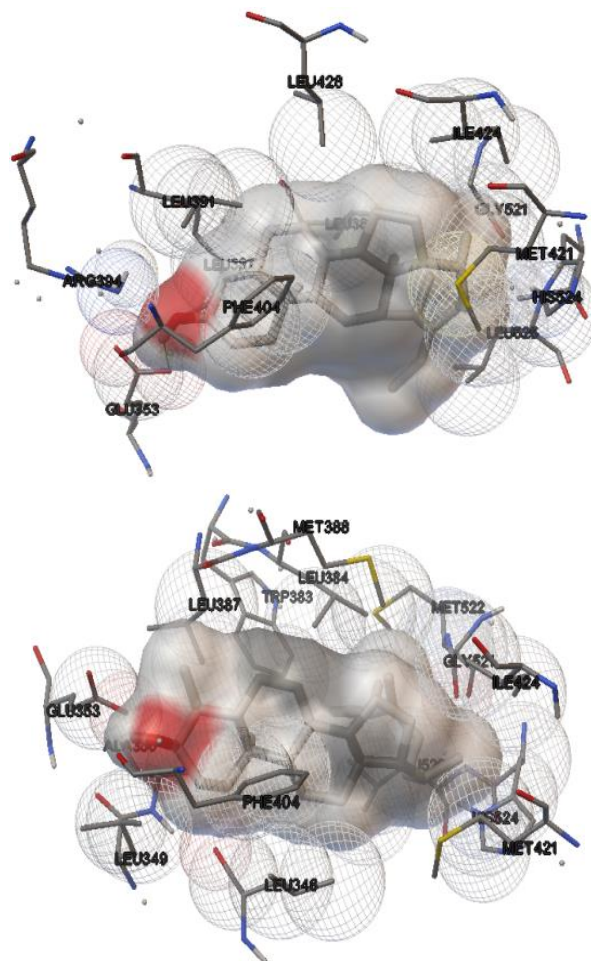
Hasil *docking* senyawa toksik reproduksi pada reseptor estrogen alfa dan beta menunjukkan senyawa  $\Delta^7$ -avenasterol dan  $\beta$ -sitosterol memiliki energi bebas ikatan terendah diantara senyawa-senyawa lainnya. Hasil *docking* senyawa antioksidan alami



golongan steroid dengan reseptor estrogen alfa dan estradiol sebagai ligan pembanding dapat dilihat pada tabel 6. Senyawa  $\Delta^7$ -avenasterol dan  $\beta$ -sitosterol memiliki energi yang lebih rendah dibanding estradiol. Hal itu menunjukkan bahwa kedua senyawa tersebut dapat berkompetisi dengan ligan alami estrogen untuk dapat berikat dengan reseptor estrogen alfa. Senyawa  $\Delta^7$ -avenasterol memiliki ikatan hidrogen antara atom O pada gugus OH dengan atom O pada residu asam amino GLY (glisin) 353 dengan jarak 1,917 Å. Residu asam amino senyawa  $\Delta^7$ -avenasterol dan  $\beta$ -sitosterol yang berdekatan dan memiliki kemiripan dengan residu asam amino ligan pembanding estradiol pada estrogen alfa yaitu GLU353, LEU384, LEU387, ILE424, dan GLY521.

**Tabel 6.** Hasil *docking* senyawa fitosterol pada reseptor estrogen alfa

Senyawa	Residu asam amino	Energi bebas ikatan (kkal/mol)	Ki (nM)	Ikatan Hidrogen
Testosteron	GLU353, LEU384, LEU387, MET388, LEU391, ILE424, LEU428, GLY521, LEU525, HIS542	-10,60	17,04 nM	-
$\Delta^5$ -avenasterol	LEU346, LEU349, ALA350, GLU353, TRP383, LEU384, LEU387, MET388, LEU391, PHE404, MET421, ILE424, LEU428, GLY521, HIS524	11,56	-	-
$\Delta^7$ -avenasterol	GLU353, LEU384, LEU387, LEU391, ARG394, PHE404, MET421, ILE424, LEU428, GLY521, HIS524, LEU525	-13,14	232,98 pM	-
$\beta$ -sitosterol	LEU340, LEU346, ALA350, GLU353, TRP383, LEU384, LEU387, MET388, THR394, PHE404, MET421, ILE424, GLY521, MET522, HIS524	-11,89	1,92 nM	-
Brasikasterol	LEU349, ALA350, GLU353, TRP383, LEU384, LEU387, MET388, LEU391, PHE404, ILE424, LEU428, GLY521, MET522, HIS524	67,13	-	-
Kampesterol	PRO324, GLU385, ILE386, MET388, ILE389, GLY390, LYS449, ILE452, ILE514, MET517, SER518,	3334,90	-	-
Stigmasterol	LEU346, LEU349, ALA350, GLU353, TRP383, LEU384, LEU387, MET388, LEU391, PHE404, ILE424, LEU428, GLY521, MET522, LEU525	4,83	-	-



**Gambar 3.** Hasil *docking* senyawa  $\Delta^7$ -avenasterol dan  $\beta$ -sitosterol pada reseptor estrogen alfa

### Reseptor progesteron

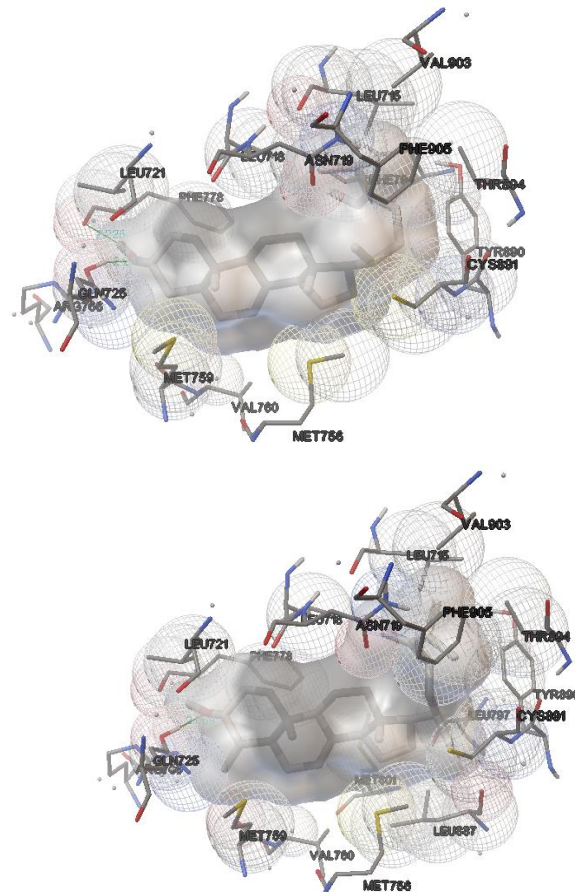
Senyawa  $\Delta^7$ -avenasterol dan  $\beta$ -sitosterol pada hasil *docking* dengan reseptor progesteron memiliki energi bebas ikatan yang lebih rendah dibanding ligan alami yaitu progesteron seperti yang dapat dilihat pada tabel 7. Semakin rendah energi bebas ikatan maka semakin stabil ligan tersebut dapat berikatan dan berinteraksi dengan reseptor. Adanya senyawa yang dapat berkompetisi dengan ligan alami menyebabkan ligan alami tidak dapat berikatan dengan reseptor. Kompetisi antara ligan alami reseptor estrogen dengan ligan lain dapat mempengaruhi fungsi biologisnya baik berupa efek agonis maupun antagonis (Ekins, 2007).

Senyawa  $\Delta^7$ -avenasterol memiliki dua ikatan hidrogen yaitu antara O pada gugus OH dengan atom O pada residu asam amino GLN (glisin) 725 dengan jarak 2,225 Å dan ARG (arginin) 766 dengan jarak 2,248 Å, sedangkan senyawa  $\beta$ -sitosterol memiliki satu ikatan hidrogen yaitu antara atom O pada gugus OH dengan residu asam amino GLN (glisin) 725 dengan jarak 2,069 Å. Residu asam amino pada  $\Delta^7$ -avenasterol dan  $\beta$ -sitosterol yang berdekatan dan memiliki kemiripan dengan senyawa ligan

pembandingan yaitu ASN719, GLN725, MET759, ARG766, PHE778, THR890, dan THR894.

**Tabel 7.** Hasil *docking* senyawa fitosterol pada reseptor progesteron

Senyawa	Residu asam amino	Energi bebas ikatan (kkal/mol)	Ki (nM)	Ikatan Hidrogen
Testosteron	ASN719, GLN725, MET759, ARG766, PHE778, LEU797, MET801, TYR890, THR894	-12,37	853,37 pM	O-O 725GLN (1,999 Å)
$\Delta^5$ -avenasterol	LEU715, LEU718, LEU721, GLY722, GLN725, MET756, MET759, VAL760, PHE778, PHE794, MET801, TYR890, CYS891, THR894	-10,16	35,64 nM	-
$\Delta^7$ -avenasterol	LEU715, LEU718, ASN719, LEU721, GLY725, MET756, MET759, VAL760, ARG766, PHE778, PHE794, TYR890, CYS891, THR894, VAL903, PHE905	-13,46	135,13 pM	O-O 725GLN (2,225 Å)
$\beta$ -sitosterol	LEU715, LEU718, ASN719, LEU721, GLN725, MET756, MET759, VAL760, ARG766, PHE778, LEU787, LEU797, MET801, TYR890, CYS891, THR894, VAL903, PHE905	-13,38	155,26 pM	O-O 725GLN (2,069 Å)
Brasikasterol	LEU715, LEU718, ASN719, LEU721, GLY722, GLN725, MET756, MET759, LEU797, LEU887, TYR890, CYS891, THR894	-8,43	663,81 nM	-
Kampesterol	LEU715, LEU718, ASN719, LEU721, GLY722, GLN725, MET756, MET759, VAL760, PHE778, PHE794, LEU797, LEU887, TYR890, THR894	-9,81	63,99 nM	-
Stigmasterol	LEU715, LEU718, ASN719, LEU721, GLY722, GLN725, MET756, MET759, VAL760, LEU763, PHE778, LEU797, MET801, LEU887, TYR890, THR894, MET909	-11,92	1,84 nM	-

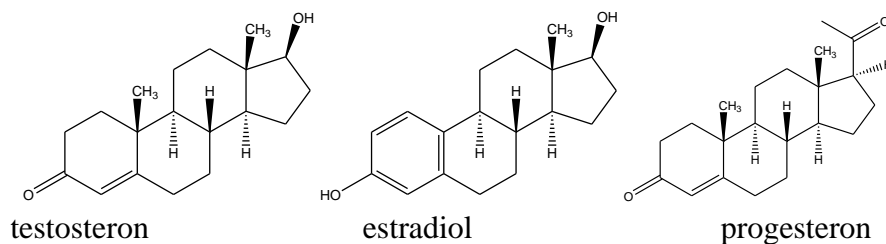


**Gambar 4.** Hasil *docking* senyawa  $\Delta^7$ -avenasterol dan  $\beta$ -sitosterol pada reseptor progesteron

Hasil analisis *docking* antara senyawa antioksidan alami golongan steroid dengan reseptor androgen, estrogen alfa, dan progesteron menunjukkan adanya interaksi. Senyawa  $\Delta^7$ -avenasterol dan  $\beta$ -sitosterol memiliki energi bebas ikatan yang lebih rendah dibandingkan dengan estradiol dan progesteron sebagai senyawa pembanding, tetapi tidak lebih rendah dibandingkan testosteron. Hasil analisis *docking* tersebut sebanding dengan penelitian yang dilakukan oleh van den Heuvel *et al.* (2006) yang menunjukkan bahwa aktivitas hormonal zat murni  $\beta$ -sitosterol, stigmasterol, dan produknya yang dimurnikan dengan oksidasi klorin dioksida memiliki aktivitas estrogenik pada uji ikatan dengan reseptor estrogen. Pada uji ikatan dengan reseptor androgen, fitosterol dan produk oksidasinya menunjukkan aktivitas yang kecil tetapi masih dapat terukur.

Hasil analisis *docking* pada ketiga reseptor menunjukkan bahwa senyawa yang memiliki energi bebas ikatan terendah yaitu  $\Delta^7$ -avenasterol kemudian diikuti oleh  $\beta$ -sitosterol. Senyawa  $\Delta^7$ -avenasterol dan  $\beta$ -sitosterol memiliki kemiripan struktur dengan ligan pembandingnya yaitu testosteron, estradiol dan progesteron seperti yang terlihat pada gambar 5. Struktur senyawa antioksidan alami golongan sterol dan ligan

pembandingan memiliki struktur senyawa steroid yang terdiri dari 17 atom karbon yang membentuk tiga cincin sikloheksana dan satu cincin siklopentena. Perbedaan struktur  $\Delta^7$ -avenasterol dan  $\beta$ -sitosterol dengan ligan pembandingan yaitu terletak pada gugus alkil yang terikat pada cincin siklopentana. Gugus alkil dapat berinteraksi dengan kantung hidrofobik pada *binding site* reseptor. Semakin besar dan panjang gugus alkil, maka akan semakin besar interaksi pengikatan dengan reseptor. Hal tersebut dapat menghalangi ligan alami untuk berikatan dengan reseptor (Patrick, 2013).



**Gambar 5.** Struktur senyawa pembandingan

### KESIMPULAN

Senyawa antioksidan alami golongan steroid yang berasal dari tumbuhan yaitu  $\Delta^5$ -avenasterol,  $\Delta^7$ -avenasterol,  $\beta$ -sitosterol, brasikasterol, kampesterol, dan stigmasterol diprediksi memungkinkan toksik terhadap sistem reproduksi menggunakan peragkat lunak ADMET predictor. Hasil analisis *docking* antara senyawa antioksidan alami golongan steroid dengan reseptor androgen, estrogen alfa, dan progesteron menunjukkan adanya interaksi. Senyawa  $\Delta^7$ -avenasterol dan  $\beta$ -sitosterol memiliki energi bebas ikatan yang lebih rendah dibandingkan dengan estradiol dan progesteron sebagai senyawa pembandingan, tetapi tidak lebih rendah dibandingkan testosteron. Senyawa  $\Delta^7$ -avenasterol dan  $\beta$ -sitosterol dapat menjadi inhibitor ligan alami pada reseptor estrogen alfa dan progesteron.

### DAFTAR PUSTAKA

- Campbell, N. A., Reece, J. B., dan Mitchel, L. G. 2004. *Biologi*. Edisi kelima. Alih bahasa Wasmen Manalu. Erlangga. Jakarta. 146.
- Ekins, S. 2007. *Computational Toxicology*. A John Wiley & Sons, Inc. Hoboken, New Jersey. 315.
- EU Scientific Committee on Food. 2002. General view on the long-term effects of the intake of elevated levels of phytosterols from multiple dietary sources, with particular attention. SCF/CS/NF/DOS/20 ADD 1 Final report.
- Gul, M. K., Amar, S. 2006. Sterols and the phytosterol content in oilseed rape (*Brassica napus L.*). *Journal of Cell and Molecular Biology*. 5. 71-79.

- Lengyel, J., Rimarc̃ik, J., Vaganek, A., Fedor, J., Lukeš, V., Klein, E. 2012. Oxidation of sterols: Energetics of C–H and O–H bond cleavage. *Food Chemistry*. 133(4):1435-1440.
- Lu, J., Qiana, W., Xua, L., Huanga, G., Conga, W., Wanga, Z., Deng, X., Wang, D., Guan, S. 2012. Phytochemical composition and toxicity of an antioxidant extract from *Pimpinella brachycarpa* (Kom.) Nakai. *Environmental Toxicology and Pharmacology*.34(2):409–415
- Patrick, G. L. 2013. *An Introduction to Medicinal Chemistry*.Fifth edition. Oxford University Press. UK. 228-229.
- Piironen, V., Lindsay, D. G., Miettinen, T. A., Toivo, J., dan Lampi, A.M. 2000. Review Plant sterols: Biosynthesis, biological function and their importance to human nutrition. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80. 939- 966.
- Pokorny, J., Yanishlieva, N., dan Gordon, M. 2001. *Antioxidants in food: Practical applications*.Woodhead Publishing Ltd. Cambridge England. 42-49, 154, 160-161.
- Reisfeld, B. dan Mayeno, A. N. 2012. *Computational Toxicology*. Volume I. Humana Press. New York. 4.
- Valerio, L. G. 2009. *In Silico Toxicology for The Pharmaceutical Sciences*. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 241. 356–370.
- Van den Heuvel, M. R., Leusch, F. D., Taylor, S., Shannon, N., dan McKague, A. B. 2006. Assessment of the reportductive-endocrine disrupting potential of chlorine dioxide oxidation products of plant sterols. *Environmental Science and Technology*. 40(8): 2594-2600.
- Winkler, J., & Warner, K. 2008. The effect of phytosterol concentration on oxidative stability and thermal polymerization of heated oils. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 110. 455–464.
- World Health Organisation. 2009. Safety evaluation of certain food additives / prepared by the sixty-ninth meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). Phytosterols, phytostanols and their esters. 117-164.
- Worth, A., Fuart-Gatnik, M., Lapenna, S., Piparo, E. L., Mostrag-Szlichtyng, A., dan Serafimova, R. 2011. The Use of Computational Methods inthe Toxicological Assessment of Chemicals in Food: Current Status and Future Prospects. *JRC Scientific and Technical Reports*.EUR 24748 EN.
- Yoshida, Y., Niki, E. 2003. Antioxidant effects of phytosterol and its components. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*. 49(4):27780.