

STUDI KOMPUTASI INTERAKSI ISOFLAVON DENGAN RESEPTOR ESTROGEN β MENGUNAKAN METODE ONIOM

Budi Mulyati

Jurusan Teknik Industri, Fakultas Teknik Universitas Nurtanio, Jl. Pajajaran No. 219 Bandung

e-mail: b.mulyati@yahoo.com

Abstract: Estrogen receptor (ER) β is an important target of the world seek treatment for hormone replacement in postmenopausal women and chemotherapy drugs against cancer. Isoflavones are phytoestrogens that can be attached to both types of estrogen receptors with varying affinities. The purpose of this study was to determine the sequence of ligands that interact more strongly to the ER β and determine the functional groups that play an active role and the type of interaction that occurs between the ligand and receptor. The research begins with optimization of RE β structure (PDB code 1QKM) then do the receptor and ligand docking simulations using Autodock Vina. The ligands used in this study is a Factor 2, Daidzein, Genistein, Glisitein, Kakkatin, Biochanin A, 6,4'-dihydroxy-7-metoksiisoflavon. Used as the natural ligand Estrogen. The results of this study indicate energy RE affinity of Factor β 2, Daidzein, Genestein, Kakkatin, 6,4'-dihydroxy-7-metoksiisoflavon, Glisitein, Biochanin A, respectively -6.7 kcal / mol; -6.5 Kcal / mol; -6.3 Kcal / mol; -5.9 Kcal / mol; -5.4 Kcal / mol; -4.8 Kcal / mol and -3.2 kcal / mol. While the order of the estrogenic potency of calculation oniom on Estrogen Receptor β is a factor 2 > Genestein > Daidzein > Kakkatin > biochanin A > Glisitein > 6,4'-dihydroxy-7-metoksiisoflavon.

Keywords: Estrogen Receptor β ; Isoflavones; ONIOM

Abstrak: Reseptor Estrogen (RE) β merupakan target penting dalam dunia pengobatan untuk mencari hormon pengganti pada wanita menopause dan obat kemoterapi melawan kanker. Isoflavon merupakan fitoestrogen yang dapat terikat pada kedua jenis estrogen reseptor dengan afinitas yang bervariasi. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan urutan ligan yang berinteraksi lebih kuat terhadap RE β serta menentukan gugus fungsi yang berperan aktif dan jenis interaksi yang terjadi antara ligan dan reseptor. Tahap penelitian dimulai dengan optimasi struktur RE β (PDB kode 1QKM) kemudian dilakukan simulasi *docking* dan ligan dengan menggunakan *autodock Vina* dan ditentukan energi afinitasnya. Ligan yang digunakan pada penelitian ini adalah Faktor 2, Daidzein, Genistein, Glisitein, Kakkatin, Biochanin A, 6,4'-dihidroksi-7-metoksiisoflavon. Sebagai pembanding digunakan ligan alami Estrogen. Hasil penelitian ini menunjukkan energi afinitas RE β terhadap Faktor 2, Daidzein, Genestein, Kakkatin, 6,4'-dihidroksi-7-metoksiisoflavon, Glisitein, Biochanin A, berturut-turut adalah -6,7 kkal/mol; -6,5 kkal/mol; -6,3 kkal/mol; -5,9 kkal/mol; -5,4 kkal/mol; -4,8 kkal/mol dan -3,2 kkal/mol. Untuk mengetahui residu asam amino yang berikatan dengan ligan, hasil *autodock vina* diproses menggunakan Ligplus. Urutan potensi estrogenik dari perhitungan ONIOM pada Reseptor Estrogen β adalah Faktor 2 > Genestein > Daidzein > Kakkatin > Biochanin A > Glisitein > 6,4'-dihidroksi-7-metoksiisoflavon.

Kata Kunci: Reseptor Estrogen β ; Isoflavon; ONIOM

PENDAHULUAN

Hormon adalah senyawa-senyawa kimia alami dan dikeluarkan oleh kelenjar endokrin ke dalam sirkulasi darah. Salah satu contoh hormon pada manusia adalah estrogen. Estrogen mempengaruhi pertumbuhan, merangsang perkembangan ciri kelamin sekunder wanita dan berfungsi pada berbagai macam target di jaringan, termasuk jaringan sistem reproduktif pria dan wanita seperti payudara, uterus, ovarium, testis dan prostat. Estrogen juga berperan penting dalam pemeliharaan tulang dan sistem kardiovaskular dimana estrogen mempunyai efek kardioprotektif tertentu (Clark *et al.* 1992).

Reseptor estrogen merupakan salah satu anggota reseptor inti yang memperantarai aksi hormon estrogen di dalam tubuh. Estrogen bekerja meregulasi pertumbuhan dan diferensiasi sel-sel sistem reproduksi baik pada wanita dan pria, serta dapat meningkatkan kadar kolesterol HDL dan menurunkan LDL sehingga berpotensi mengurangi resiko penyakit kardiovaskuler. Estrogen berperan penting pada perkembangan otak, penyakit autoimun, dan metabolisme

tulang dan pada sisi lain, estrogen dapat memicu pertumbuhan, *proliferasi* dan *metastase* kanker payudara (Prawiroharsono 2001). Reseptor estrogen terdiri dari 2 subtipe yaitu, estrogen α (RE α) dan estrogen β (RE β). Kedua reseptor ini dibentuk oleh rantai tunggal polipeptida dengan 565 asam amino untuk RE α dan 530 asam amino pada RE β .

Proses pengikatan hormon pada reseptor estrogen di membran sel, dan ikatan tersebut berikatan dalam bentuk dimer. Setelah hormon berikatan dengan reseptornya, reseptor berpindah ke inti sel dan kemudian reseptor tersebut berikatan ERE (*estrogen response element*) dan kompleks tersebut akan berikatan dengan koaktivator sehingga faktor transkripsi menjadi aktif yang dapat mengubah ekspresi gen. Selanjutnya regulasi transkripsi gen akan menghasilkan suatu protein spesifik yang terlibat dalam fungsi biologis tertentu.

Isoflavon adalah sejenis *fitonutrien*, yang kaya dalam kacang kedelai dan produk kacang kedelai itu sendiri. Isoflavon terdiri dari empat jenis, yaitu daidzein, genestein, glisitein dan faktor 2. Struktur dari isoflavon sama dengan struktur kimia dari estrogen. Estrogen itu

sendiri memiliki peran yang sangat penting dan aktif didalam proses penyembuhan penyakit yang disebabkan oleh hormon. Menurut Allred (2004) sebuah penelitian menunjukkan bahwa bangsa Asia, khususnya Jepang, memiliki resiko yang lebih rendah untuk terserang penyakit kanker payudara dan gejala menopause, dibanding dengan bangsa Eropa dan sekitarnya. Hal ini disebabkan oleh banyaknya konsumsi kacang kedelai di kalangan Asia. Isoflavones dapat mengurangi kadar kolesterol, yang dapat mengakibatkan *atherosclerosis* dan penyempitan pembuluh darah sehingga dapat menurunkan resiko serangan jantung dan stroke.

Tanaman yang banyak terdapat di Indonesia dan sudah diketahui mengandung senyawa isoflavon dengan kadar tinggi selain kedelai adalah kunyit, laos, dan temu hitam (Asih 2009). Pada kacang kedelai banyak mengandung Genestein, Daidzein dan Glisitein (Kuiper, 1998), sedangkan pada kunyit, laos dan temu hitam mengandung kakkatin, Biochanin A dan 6,4'-dihidroksi-7-metoksiisoflavon (Murata 1985). Pada tahun 1964 Gyorgy dkk. menemukan isoflavon yang diisolasi dari tempe tradisional yaitu faktor 2 (6,7,4'-trihidroksiisoflavon).

Menurut penelitian Kuiper (1998) *fitoestrogen* meliputi *genistein*, *coumestrol* dan *zearalenone* menstimulasi aktivitas transkripsi kedua tipe estrogen reseptor pada konsentrasi 1-10 nM. Peringkat potensi estrogenik *fitoestrogen* terhadap reseptor estrogen α adalah sebagai berikut: Estradiol >> zearalenone = coumestrol > genistein > daidzein > apigenin = phloretin > biochanin A = kaempferol = naringenin > formononetin = ipriflavone = quercetin = chrysin. Sedangkan potensi estrogenik fitoestrogen terhadap reseptor estrogen β adalah Estradiol >> genistein = coumestrol > zearalenone > daidzein > biochanin A = apigenin = kaempferol = naringenin > phloretin = quercetin = ipriflavone = formononetin = chrysin.

ONIOM merupakan singkatan dari *Our own N-layered Integrated molecular Orbital and molecular Mechanic*. Singkatnya, *ONIOM* adalah suatu teknik perhitungan dengan membagi sistem menjadi beberapa lapisan (layer), bisa menjadi dua atau tiga lapisan dengan metode kimia komputasi yang berbeda. Untuk lapisan yang dalam atau ikatan antara ligan dan residu dari reseptor estrogen α dan β disebut sebagai "*high layer*". Pada high layer ini optimasi dan energi dihitung menggunakan metode *QM (Quantum Mechanics)* sedangkan

lapisan yang tidak berikatan langsung dengan ligan, disebut lapisan “*low layer*”. Lapisan *low layer* ini optimasi dan energi dihitung menggunakan MM (*Molecular Mechanics*).

METODE

Perangkat keras yang digunakan pada penelitian ini adalah Komputer server ITB *High Performance Computer (HPC)* dan sistem operasi Linux Mandriva 2009 dan perangkat komputer dengan sistem operasi Windows 2010. HPC ITB mempunyai 20 *nodes* dimana setiap *nodes* mempunyai 24 *cores intel prosesor* 16 GB dengan sistem operasi *Rocks Cluster*.

Perangkat Lunak yang digunakan dalam penelitian ini adalah untuk keperluan simulasi yaitu ACD/Chemsketch digunakan untuk membuat struktur dua dimensi dan tiga dimensi seluruh ligan. *Avogadro* digunakan untuk visualisasi struktur tiga dimensi ligan dari hasil ACD/ChemSketch maupun Gaussian-09. Untuk membuat input data dan menentukan “*low layer*” dan “*high layer*” pada Gaussian-09 dengan metode ONIOM digunakan Gaussview 5.0, sedangkan untuk keperluan visualisasi adalah VMD digunakan untuk visualisasi dan preparasi input yang akan digunakan

untuk simulasi pada NAMD. VMD juga digunakan untuk menganalisa *output* dari hasil perhitungan simulasi NAMD. NAMD digunakan untuk optimasi struktur protein. Autodock Vina digunakan untuk simulasi docking Reseptor Estrogen β dengan seluruh ligan. Pymol digunakan untuk visualisasi hasil proses docking juga hasil perhitungan dengan metode ONIOM pada Gaussian-09.

Optimasi Struktur Ligan dan Reseptor Estrogen

Ligan yang digunakan pada penelitian ini sebanyak delapan buah yaitu Estrogen, Genistein, Daidzein, Glisitein, Biochanin A, 6,4'-dihidroksi-7-metoksiisoflavon, Kakkatin dan Faktor 2. Struktur ligan digambar menggunakan ACD/Chemsketch kemudian dibuat tampilan tiga dimensi. Input dibuat menggunakan Avogadro untuk selanjutnya dilakukan simulasi optimasi geometri menggunakan Gaussian-09. Optimasi geometri diset pada temperatur 310 K dengan basis 6-31 G (d) dan teori B3LYP.

Simulasi Docking Reseptor Estrogen β – Ligan dan Penentuan Residu Aktif

Program *Autodock Vina* digunakan untuk menggabungkan setiap ligan ke RE

β. Autodock dapat menggabungkan molekul ligan ke molekul protein globular yang rigid berdasarkan algoritma *Lamarckian genetic*. Model ini mengkombinasikan kecepatan evaluasi energi menggunakan prekalkulasi kisi (*grid*) energi afinitas atomik setiap tipe atom dalam molekul reseptor dengan variasi algoritma pencarian untuk menemukan posisi pengikatan yang sesuai untuk ligan dimana pada penelitian ini digunakan *genetic algorithm* (GA).

Model estrogen reseptor digunakan sebagai molekul target. Program *Autodock Vina* 4.0 digunakan untuk mengkalkulasikan muatan parsial atom dalam molekul target. Kisi kubus (*grid box*) (18 x 18 x 18) dari interaksi karbon, hidrogen dan oksigen. Dilakukan penambahan hidrogen polar pada REα menggunakan *AutoDock Vina*. Proses docking REα-ligan juga dilakukan menggunakan *AutoDock Vina*. REα yang digunakan adalah REα dalam bentuk kristalnya sebelum dioptimasi dan REα dalam bentuk solvasi setelah optimasi. Hasil docking dianalisis menggunakan Pymol. Untuk menentukan residu asam amino yang aktif yang berikatan langsung dengan ligan maka digunakan software Ligplot dengan memasukkan data PDB hasil dari autodock Vina.

ONIOM

Hasil Docking dari autodock Vina yang berbentuk PDB, divisualisasi dengan Gaussview 5.0 kemudian residu asam amino yang berikatan langsung dengan ligan dipilih menjadi lapisan pertama atau “high layer” dan dihitung menggunakan metode Density Functional Theory (DFT) dan basis set 6-31G. Sedangkan residu lain yang tidak berikatan langsung dengan ligan dipilih sebagai lapisan kedua atau “Low layer” dengan perhitungan Universal Force Field (UFF). Setelah persiapan di Gaussview 5.0 kemudian dihitung muatan mulliken, optimasi, energi pada low layer dan high layer menggunakan Gaussian-09.

HASIL DAN PEMBAHASAN

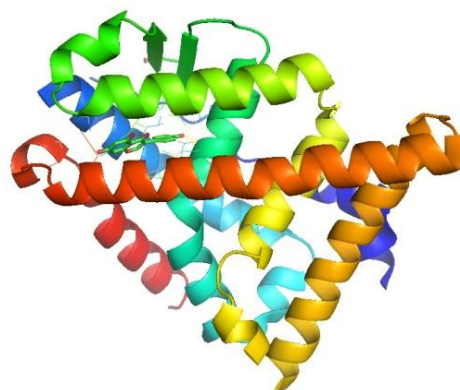
Optimasi Struktur Ligan

Komputasi kimia dapat menjelaskan dengan teliti sifat dan parameter yang ada dalam sistem kimia. Beberapa diantaranya yaitu penentuan struktur/geometri, frekuensi vibrasi dan spektra berbagai molekul. Tahap awal dari studi komputasi adalah menentukan optimasi geometri. Optimasi geometri bertujuan untuk mendapatkan struktur molekul tiga dimensi dengan energi minimum (keadaan paling stabil).

Penentuan optimasi geometri molekul diawali dengan perkiraan awal struktur yang dinyatakan dalam Z-matrik.

Ligan adalah senyawa organik atau anorganik yang berperan dalam interaksi pada domain pengikatan ligan protein dan dapat mempengaruhi aktivitas pada protein tersebut. Ligan dapat berupa substrat, regulator, inhibitor, kofaktor maupun efektor lain. Dalam penelitian ini ligan yang berupa senyawa organik yang berinteraksi dengan sisi aktif protein sebagai molekul pembawa pesan untuk mengaktifkan reseptor untuk melakukan tahap transkripsi. Ligan ini dioptimasi agar didapat energi elektronik seminimal mungkin. Perhitungan ini dilakukan dengan pendekatan DFT (*Density Functional Theory*), yaitu pendekatan untuk menghitung atau menentukan geometri struktur optimal pada molekul dengan banyak atom secara Quantum Mechanics (QM). Perhitungan ini juga dilakukan dengan pendekatan Born-Oppenheimer yaitu inti atom dianggap diam pada saat meninjau gerak elektron. Sehingga energi elektronik yang dihitung merupakan penjumlahan dari energi potensial elektron dan energi kinetik elektron. Ketika didapat geometri molekul berada pada posisi jarak dan sudut yang paling stabil. Molekul ini merupakan bentuk yang paling optimal

pada simulasi yang menyerupai sistem yang sebenarnya.



Gambar 1. Reseptor Estrogen β (1QKM) dengan Estrogen

Pada penelitian ini seluruh ligan fitoestrogen dan estrogen dioptimasi menggunakan Gaussian-09. Optimasi geometri seluruh ligan berhasil dilakukan. Kerapatan elektron pada setiap atom dalam molekul juga dapat ditentukan. Struktur RE β dan ligan estrogen sesudah dioptimasi dapat dilihat pada Gambar 1.

Docking

Proses Docking dilakukan pada RE β yang sudah dioptimasi dengan ligan yang sudah dioptimasi pula. Pada proses docking, protein reseptor diasumsikan sebagai molekul yang kaku, sedangkan ligan diasumsikan sebagai molekul yang memiliki beberapa derajat kebebasan, terutama dalam sudut torsional, karena beberapa parameter lainnya seperti

panjang ikatan dan sudut ikatan memiliki nilai konstan untuk konformasi molekul yang berbeda. Oleh karena itu, hasil yang didapat setelah tahap *docking* adalah berbagai energi afinitas interaksi ligan yang dapat terikat pada domain pengikatan ligan RE β . Energi afinitas ligan terhadap RE β diberikan pada Tabel 1. Bila dianggap interaksi pembentukan kompleks estrogen dengan RE β yang sudah dioptimasi dalam kondisi berair adalah 100%, maka persentase interaksi pembentukan reseptor estrogen β dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 1. Energi Afinitas Ligan terhadap RE β

Nama Ligan	Energi Afinitas (Kkal/mol)
Estrogen	-6,8
Faktor 2	-6,7
Daidzein	-6,5
Genistein	-6,3
Kakkatin	-5,9
Biochanin A	-5,4
6,4 - dihidroksi - 7 – metoksiisoflavon	-4,8
Glisitein	-3,2

Tabel 2. Perbandingan persentase estrogenik dari isoflavon terhadap estrogen berdasarkan binding energi pada Reseptor Estrogen β

Nama Ligan	Persentase Interaksi
Estrogen	100%
Faktor 2 *	98,53 %
Daidzein	95,59 %
Genistein	92,65%
Kakkatin *	86,76 %
Biochanin A	79,41 %
6,4 - dihidroksi - 7 – metoksiisoflavon*	70,59 %
Glisitein*	47,05 %

Keterangan: Untuk ligan yang bertanda * belum ada data eksperimen

Berdasarkan urutan potensi estrogenik yang tidak sama menunjukkan bahwa hasil pemodelan struktur reseptor-ligan secara komputasi tidak sejalan dengan hasil eksperimen yang dilakukan oleh Kuiper et al, namun perbedaannya hanya terletak pada urutan daidzein dan genestein. Hal ini dikarenakan adanya gugus OH yang lebih elektronegatif pada gugus aromatik pada ligan daidzein menyebabkan adanya ikatan hidrogen antara ligan dengan reseptor estrogen lebih stabil, dan menyebabkan energi afinitas antara daidzein dan reseptor estrogen menjadi rendah.

Meskipun terdapat perbedaan urutan potensi estrogenik antara daidzein dan genestein, akan tetapi perbedaannya hanya 2,94% pada reseptor estrogen β , sehingga perbedaannya tidak terlalu signifikan. Sementara itu, untuk ligan faktor 2, kakkatin, 6,4-dihidroksi-7-metoksiisoflavon dan glisitein belum ada data eksperimen.

Ira Handayani (2006) telah melakukan penelitian *docking* menggunakan Autodock virtual screening dgn menggunakan NAMD. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa faktor 2 mempunyai afinitas pengikatan terhadap ER β jauh lebih tinggi dibandingkan isoflavon lainnya sebagai agonis ER β , dimana afinitas faktor 2

terhadap ER β adalah 83,61%, sedangkan untuk isoflavon lain seperti kakkatin, genistein, daidzein, 6,4-dihidroksi-7-metoksiisoflavon, glisitein, dan biochanin A secara berturut-turut persentasenya adalah sebagai berikut: 80,29%, 79,29%, 78,95%, 77,51%, 77,40%, dan 76,74%.

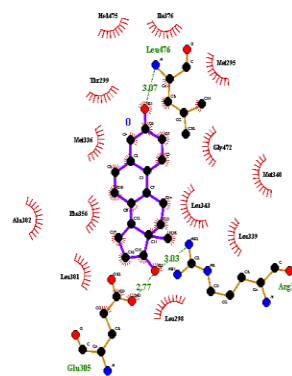
Dari kedua penelitian dapat diambil kesimpulan bahwa dibandingkan dengan isoflavon lain, faktor 2 memiliki afinitas yang paling tinggi hal ini dikarenakan struktur faktor 2 mempunyai tiga gugus hidroksil pada posisi C-6, C-7 dan C-4 sehingga probabilitas untuk berinteraksi secara ikatan hidrogen tinggi. Ikatan hidrogen penting dalam pengikatan ligan dan reseptor. Struktur dan *orientasi docking* dari interaksi secara ikatan hidrogen dari faktor 2 menyebabkan banyak terbentuknya ikatan hidrogen antara faktor 2 dan reseptor estrogen.

Gugus fungsi yang berperan pada Reseptor Estrogen β

Berdasarkan Tabel 1 dapat diketahui bahwa energi afinitas estrogen paling rendah dibandingkan ligan lain. Hal ini disebabkan karena estrogen mempunyai gugus fenol pada posisi C-3 dalam cincin aromatik A, inti hidrokarbon yang relatif kaku dan gugus fungsi alkohol pada posisi C-17. Hidroksil dari C-3 berfungsi sebagai donor ikatan hidrogen dan C-17

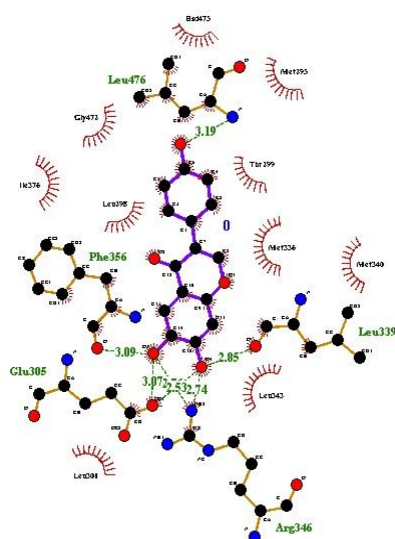
hidroksi berfungsi sebagai akseptor ikatan hidrogen.

Inti hidrokarbon yang relatif datar menyebabkan energi afinitas estrogen rendah, hal inilah yang menyebabkan kecocokan geometri dari kedua molekul pada RE β . Estrogen yang terikat dengan RE β memiliki energi afinitas paling negatif yaitu sebesar -6,8 kkal/mol. Gugus hidroksi fenolik membentuk ikatan hidrogen dengan Leu 476 dengan panjang ikatan 3.07 Å. Dua ikatan hidrogen yang lain terbentuk dari gugus hidroksi fenolik membentuk ikatan hidrogen dengan Arg 346 dan Glu 305. Berdasarkan hasil perhitungan dengan menggunakan metode *ONIOM*, terdapat muatan Mulliken pada Arg 346 dan Leu 476. Hal ini menguatkan bahwa residu Arg 346 dan Glu 305 mempunyai peranan sebagai residu katalitik dalam pengikatan ligan estrogen dengan reseptornya.



Gambar 2. Hasil ligplus Interaksi RE β dengan Estrogen

Dibandingkan dengan isoflavon lain, faktor 2 memiliki afinitas ikatan jauh lebih tinggi. Hal ini dikarenakan secara struktural faktor 2 memiliki tiga gugus hidroksil pada posisi C-6, C-7 dan C-4 sehingga probabilitas untuk membentuk ikatan hidrogen tinggi. Terbentuknya tujuh ikatan hidrogen inilah yang menyebabkan faktor 2 lebih stabil sehingga energi afinitas dari faktor 2 ini rendah bahkan mendekati energi afinitas estrogen yaitu -6,7 kkal/mol. Berdasarkan hasil perhitungan dengan menggunakan metode *ONIOM* terdapat muatan *mulliken* pada, Arg 346 serta Glu 305. Hal ini menunjukkan bahwa Arg 346 serta Glu 305 merupakan residu katalitik dalam pengikatan ligan dengan reseptornya.



Gambar 3. Hasil ligplus Interaksi RE β dengan Faktor 2

Energi Binding dengan metode ONIOM

ONIOM merupakan perhitungan optimasi energi antara ligan dan RE β dimana letak ligan telah ditentukan dari hasil docking *autodock vina* pada energi afinitas yang paling rendah, kemudian dioptimasi untuk menentukan energi yang paling rendah, dan diketahui muatan *mulliken* untuk menentukan sisi aktif dari RE β .

Energi *binding* antara ligan dan reseptor ditentukan dengan melakukan perhitungan energi RE β dengan ligan kemudian dikurangi hasil penjumlahan energi reseptor α tanpa ligan dengan energi ligan.

Urutan potensi estrogenik fitoestrogen pada RE β dari percobaan Kuiper *et al.* (1998) adalah sebagai berikut : Estradiol >> genistein = coumestrol > zearalenone > daidzein > biochanin A = apigenin = kaempferol = naringenin > phloretin = quercetin = ipriflavone = formonnetin = chrysin. Urutan potensi estrogen pada RE β adalah Faktor 2 > Genistein > Daizein > Kakkatin > Biochanin A > Glisitein > 6,4'-dihidroksi-7-metoksiisoflavon. Dari hasil perhitungannya *ONIOM* ternyata urutan potensi estrogenik yang sama menunjukkan bahwa hasil pemodelan struktur reseptor-ligan secara komputasi

sejalan dengan dengan hasil penelitian Kuiper (1998).

Tabel 3. Hasil Energi *Binding* RE β dari metode *ONIOM*

Nama Ligan	Energi (kKal)
Estrogen	-30,15
Faktor-2*	-29,80
Genestein	-29,41
Daidzein	-28,89
Kakkatin*	-28,31
Biochanin A	-27,56
Glisitein*	-26,52
6,4 -dihidroksi-7-metoksiisoflavon*	-25,36

Keterangan : Untuk ligan yang bertanda * belum ada data eksperimen

Akan tetapi, adanya perbedaan urutan persentase estrogenik dari hasil *autodock Vina* dan hasil dari *ONIOM* menunjukkan bahwa *Autodock Vina* merupakan perhitungan secara kasar dan belum memperhitungkan interaksi elektronik antara ligan dan reseptor. Sementara itu, pada metode *ONIOM* terdapat dua perhitungan dimana, pada interaksi antara ligan dan sisi aktif pada RE β dihitung secara *quantum mechanics* (QM) yaitu interaksi elektronik dan fungsi polarisasi antara ligan dan reseptor diperhitungkan, sehingga sangat relevan dengan struktur dalam molekul.

Perbandingan urutan potensi estrogenik fitoestrogen berdasarkan

energi afinitas metode *Autodock Vina* dan metode *ONIOM* belum bersesuaian secara kualitatif. Hal ini disebabkan oleh ketelitian yang lebih baik untuk perhitungan secara *ONIOM*, yang ditunjukkan oleh kesesuaian yang lebih baik dengan data percobaan.

KESIMPULAN

Faktor 2 (a.l terdapat di tempe) mempunyai potensi yang paling baik sebagai hormon pengganti karena mempunyai energi afinitas yang paling tinggi diantara isoflavon lain terhadap RE β dengan potensi estrogenik 98,83 % .Kakkatin yang terdapat pada temu hitam dan laos mempunyai potensi yang cukup baik untuk berinteraksi dengan RE β yaitu 86,76% .

Perbandingan urutan potensi estrogenik fitoestrogen berdasarkan energi afinitas metode *Autodock Vina* dan metode *ONIOM* belum bersesuaian secara kualitatif hal ini disebabkan oleh ketelitian yang lebih baik untuk perhitungan secara *ONIOM*, yang ditunjukkan oleh kesesuaian yang lebih baik dengan data percobaan.

DAFTAR RUJUKAN

- Achadiat, C.M. 2003, *Klinik Net*, (<http://situs.keseoproInfo/aging/jul/2003/ag01>).
- Allred, D Craig., Powel Brown, Daniel Medina. 2004, The Origin of Estrogen Receptor alpha-positive and estrogen alpha-negative human breast cancer. Texas, USA. *Breast Cancer Research*, vol. 6, hh. 240-245.
- Anonim. 2010, *ACD/Chemsketch 12.0 for Microsoft Windows. Reference Manual*. Comprehensif Interface Description. Advance Chemistry Development, Inc. United States. Hh. 131-171.
- Asih, I. A.R. Astiti. 2009, Isolasi dan Identifikasi Senyawa Isoflavon dari Kacang Kedelai (*Glycine max*). Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana, Bukit Jimbaran., *Jurnal Kimia*, vol. 3, no. 1, hh. 33-40.
- Barz, W., Heskamp, Klus, K., Rehms, H. dan Steinkamp, R. 1993, Recent Aspect of Protein, Phytate and Isoflavone Metabolism by Microorganisms Isolated from Tempe-Fermentation, *Tempo Workshop*, Jakarta, 15 Februari 1993.
- Barz, W. Ang G.B. Papendorf 1991, Metabolism of isoflavones and formation of factor-2 by tempeh producing microorganism. *Tempeh Workshop, Cologne*, 20 May 1991.
- Bennion, B.J. 2005, *Computational Characterization and Prediction of Estrogen Receptor Coactivator Binding Site Inhibitors*, Lawrence Livermore National Laboratory.
- Gyorgy, P., K. Murata, and H. Ikehata 1964, Antioksidants isolated from fermented soybeans tempeh. *Nature*. 203, hh. 872-875.
- Handayani, Ira. 2006, *Studi Komputasi Interaksi 6,7,4'-trihidroksiisoflavon (faktor2) dengan Estrogen Reseptor β* , Tesis tidak diterbitkan, Institut Teknologi Bandung.
- Hanwell, Marcus D., Geoff Hutchison, Tim Vandermeersch 2010, *Avogadro: Molecule Editor and Visualizer*.
- Humphrey, W., Dalke, A. and Schultenn, K 2011, VMD – Visual Molecular Dynamics. *J. Molec. Graphics* 1996. vol. 14, no. 1, hh. 33-38.
- Kuiper, George G.J.M. 1998, ENDOCRINOLOGY: Interaction of Estrogenic Chemicals and Phytoestrogens with Estrogen Receptor β , *The Endocrine Society*. 139, hh. 4252-4263.

- Murata, K. 1985, Formation of antioxidant and nutrient in tempe. *Asian Symposium on Non-salted Soybean Fermentation*, Tsukuba, Japan, July 14-16.
- Naim, M. 1973, A new isoflavone from soybeans. *Phytochemistry*, vol. 12, hh. 169-171.
- Prawiroharsono, S. 2001, *Prospek dan Manfaat isoflavon untuk kesehatan*, diakses 8 Februari 2005, (<http://www tempo.co.id/medika/arsip/042001/pus-s.htm>).
- Philips, James, Tim isgro, Marcos Sotomayor, Elisabeth Villa 2010, *NAMD tutorial*. University of Illinois at Urbana-Champaign. 7-35.
- Siliger, Daniel, Bert L. de Groot 2010, *Ligand Docking and Binding Site Analysis With Pymol and Autodock Vina*. Computational Biomolecular Dynamics Group, Max-Planck-Institute for Biophysical Chemistry, 112, hh. 625-632.
- Schrodinger, LLC. 2010, *Maestro Command Reference Manual*. Version 9.1. New York, hh. 5-30.
- Trott O, Olson A. 2010, Autodock Vina: Improving The Speed and Accuracy of Docking with A New Scoring Function, Efficient Optimization and Multithreading, *J Comp Chem*, vol. 31, hh. 455-461.
- Wang, C. & M.S. Kurzer 2003, *Phytoestrogen Concentration Determines Effects on DNA synthesis in Human Breast Cancer Cells. Nutrition and Cancer*, 28 (3).
- Wan.Y, Man. W.G, et al. 2008, The Red Clover (*Trifolium pratense*) Isoflavone Biochanin A inhibits aromatase activity and expression, *British Journal of Nutrition*, vol. 99, hh. 303-310.
- Zilleken, F. 1986, *First draft meeting on biotechnology*, BPP Teknologi, Jakarta, 11 Maret 1986.