

Potensi Anti Diabetes Fitosterol Biji Kedelai (*Glycine max*)
[Studi *in silico* pada *Glucose Transporter-4* (GLUT-4), *Dipeptidyl Peptidase-4* (DPP-4),
dan *Alpha-glukosidase*]

Muhammad Taufiq*, Reza Hakim**, Yudi Purnomo**

*Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

**Staf Pengajar Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

Email: toppek1@gmail.com

ABSTRACT

Introduction: Soybean seeds (*Glycine max*) is one of the herbs that have the potential as an anti-diabetic, but the mechanism of action and phytosterols compounds that contribute not known with certainty. This study aims to prove the anti-diabetic potential of soybean seeds in inhibiting DPP-4 and α -glucosidase activity and increasing GLUT-4 activity through *in silico* studies.

Method: Soybean powder is extracted using the digestion method with ethanol as the solvent. Identification of active compounds in ethanol extract of Soybean Seeds using Liquid Chromatography- Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS). The effect of active substances of Soybean Seeds on GLUT-4, DPP-4 and α -glucosidase were evaluated with *in silico* methode using web-based software (docking server) with Staurosporin, Vildagliptin, and Acarbose as the standard of comparison.

Result: The identified phytosterols of Soybean Seeds were β -Sitosterol, Campesterol, Stigmasterol, and Lanosterol. The *in silico* test by evaluating the value of free bonding energy (ΔG), inhibition constant (K_i) and surface interaction showed that Stigmasterol strongly inhibits DPP-4 and α -glucosidase activity and Lanosterol strongly bind to GLUT-4.

Conclusion: The *In silico* analysis of soybean seed active compounds that have potential as anti-diabetic with the mechanism of action inhibits DPP-4 and α -glucosidase activity and increases GLUT-4 activity is β -Sitosterol, Campesterol, Stigmasterol, and Lanosterol.

Keywords: Diabetes mellitus, *Glycine max*, *Glucose Transporter-4* (GLUT-4), *Dipeptidyl Peptidase-4* (DPP-4), *Alpha-glucosidase*, *In silico*

PENDAHULUAN

Oral Anti-Diabetic Drug (OAD) sering digunakan untuk penatalaksanaan diabetes melitus tipe 2 (DMT-2). Secara umum OAD mampu menurunkan kadar glukosa darah pada pasien DMT-2 melalui peningkatan sekresi insulin seperti golongan sulfonilurea, *Dipeptidyl Peptidase-4* (DPP-4) *inhibitor* dan *incretin like drug*. OAD yang bekerja meningkatkan sensitivitas insulin yaitu golongan biguanid dengan mengaktivasi Glukosa Transporter-4 (GLUT-4). Sedangkan OAD yang lain seperti acarbose menghambat aktivitas α -glucosidase dan absorpsi glukosa di intestine. OAD terbukti efektif menurunkan kadar glukosa darah tetapi sering menimbulkan efek samping yang merugikan seperti hipoglikemi, peningkatan berat badan, dan gangguan saluran pencernaan¹. Berdasarkan kondisi tersebut maka perlu dilakukan pencarian sumber obat alternatif untuk terapi DMT-2.

Kedelai (*Glycine max*) merupakan herbal yang memiliki potensi anti diabetes. Biji kedelai banyak digunakan oleh masyarakat dalam bentuk olahan makanan dan minuman seperti tahu, tempe, kecap serta susu kedelai. Selain itu biji kedelai juga digunakan untuk pengobatan beberapa penyakit salah satunya Diabetes Melitus (DM)². Pemberian

bubur kedelai dapat menurunkan kadar gula darah puasa (GDP) tikus diabetik yang diinduksi alloxan dengan cara mengembalikan massa sel β pankreas³. Hasil penelitian lain melaporkan bahwa pemberian susu kedelai pada pasien DM dapat menurunkan kadar gula darah dengan cara meningkatkan produksi insulin⁴. Meskipun beberapa studi telah membuktikan potensi biji kedelai sebagai anti diabetes namun mekanisme kerja dan zat aktif yang berperan masih belum diketahui secara pasti. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian untuk mencari mekanisme kerja ekstrak biji kedelai serta zat aktif yang berpotensi mengendalikan kadar glukosa darah pada DM.

Studi *in silico* dengan metode penambatan molekul (*Molecular docking*) berperan untuk mengetahui mekanisme kerja zat aktif pada molekul targetnya. Penambatan molekul digunakan untuk pemodelan interaksi antara molekul sederhana dengan protein pada tingkat atom, sehingga dapat mengetahui karakteristik molekul dan proses dasar reaksi biokimia⁵. Potensi anti DM ekstrak biji kedelai dapat diketahui dengan melakukan penambatan molekul secara komputasi antara kandungan zat aktifnya sebagai ligan dengan protein target yang berperan mengatur kadar gula darah (GLUT-4, DPP-4 dan α -glucosidase). Evaluasi

penambatan menggunakan parameter seperti energi bebas ikatan (ΔG), konstanta inhibisi (K_i) dan interaksi permukaan⁶. Studi *in silico* ini diharapkan untuk membuktikan potensi anti DM ekstrak biji kedelai dan zat aktif yang berperan mengendalikan efek tersebut.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan pendekatan metode *In silico* melalui penambatan molekul senyawa fitosterol dalam ekstrak biji kedelai (*Glycine max*) terhadap protein target yaitu α -glukosidase, DPP-4 dan GLUT-4. Biji kedelai diperoleh dari Varietas Argo Mulyo dengan surat keterangan determinasi nomer 074/241/102.7/2017. Penelitian ini telah dilaksanakan di Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang, Laboratorium Fakultas Teknik Kimia Politeknik Negeri Malang, dan Laboratorium Komputer Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang pada bulan Maret-Mei 2018.

Pembuatan Ekstrak Etanol Biji Kedelai

Biji kedelai direndam di air matang selama 24 jam. Kulit ari yang menempel pada biji kedelai dibersihkan. Kemudian dioven hingga kering dan dijadikan serbuk⁷. Ekstraksi menggunakan metode digesti dilakukan dengan merendam serbuk biji kedelai dalam etanol absolut pada *becker glass* yang dioven dengan suhu 50°C selama 48 jam dan dilakukan pengadukan setiap 6 jam⁸. Ekstrak yang diperoleh selanjutnya digunakan untuk identifikasi zat aktif.

Identifikasi Senyawa Fitosterol Biji Kedelai dengan Metode LC-MS/MS (*Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry*)

Uji kualitatif fitosterol biji kedelai menggunakan LC-MS/MS dengan metode *Electrospray Ion* (ESI). Ekstrak etanol biji kedelai 100 μ l ditambah dengan larutan asetonitril hingga 1000 μ l lalu ditambah dengan larutan ammonia format 20 mMol sebanyak 500 μ l, kemudian dilakukan filtrasi⁹. Filtrat diinjeksikan sebanyak 2 μ l dalam instrument LC-MS/MS (TSQ Quantum Access Max Thermo Scientific). Fase gerak larutan A (0,1% asam format dalam H₂O) dan larutan B (0,1% asam format dalam asetonitril) dengan laju alir 300 μ l/min. Hypersilgold sebagai fase diam³³. Penggunaan MS/MS Triple Q (quadrupole) spektrometer massa TSQ Quantum Access Max dari Thermo Finnigan dengan sumber ionisasi ESI (Electrospray Ionization) dikendalikan oleh software TSQ Tune yang dioperasikan dengan mode positif. Penentuan kualitatif dengan metode SRM (*Selected Reaction Monitoring*)¹⁰. Hasil analisa diamati melalui kromatogram.

Penambatan Molekul Senyawa Fitosterol Biji Kedelai terhadap Protein Target

Ligand atau senyawa fitosteril biji kedelai dan standar pembanding diunduh pada PubChem (<http://www.pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>), kemudian jenis file dirubah menjadi PDB dengan *software Open Babel* (versi 2.4.1)³⁴. Struktur protein target (GLUT-4, DPP-4 dan α -glukosidase) diunduh pada UniProt (<http://www.uniprot.org/>), kemudian dilakukan pemodelan protein (Homologi protein) pada *Swiss Model* (<http://www.swissmodel.expasy.org>) untuk mendapatkan file PDB³⁵. Penambatan molekul dan visualisasi interaksi ligan-protein dilakukan dengan *software* berbasis web (dockingserver.com)²⁹. Parameter uji penambatan antara ligand dengan protein target yang digunakan adalah ikatan energi bebas (ΔG), konstanta inhibisi (K_i) dan interaksi permukaan.

HASIL DAN ANALISA DATA

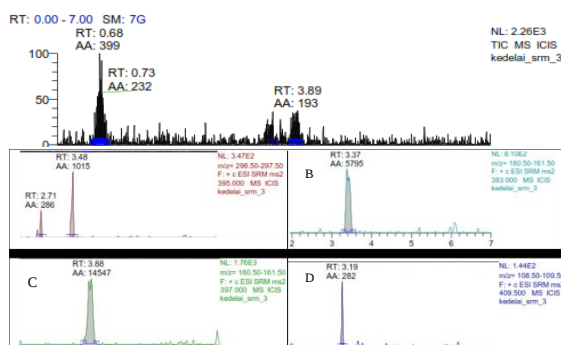
Identifikasi Fitosterol Biji Kedelai dengan Metode LC-MS/MS (*Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry*)

Fitosterol yang terkandung dalam ekstrak etanol biji kedelai (*Glycine max*) adalah Stigmasterol, Kampesterol, β -Sitosterol dan Lanosterol. Berdasarkan luas area, kadar tertinggi adalah β -Sitosterol sedangkan kadar terendah Lanosterol (Gambar 1 dan Tabel 1).

Tabel 1. Identifikasi Senyawa Fitosterol Ekstrak Etanol Biji Kedelai dengan Metode LC-MS/MS

Zat Aktif	SRM Transition (m/z) ¹⁰	Nilai SRM yang Teridentifikasi	Luas Area (AA)	Ekstrak Etanol Biji Kedelai
Stigmasterol	395-297	395	1015	++
Kampesterol	383-161	383	5795	++
β -Sitosterol	397-161	397	14547	+++
Lanosterol	409-109	409	282	+
Brassicasterol	381-297	-	-	-

Keterangan: (-) Tidak ada (+) Lemah (++) Kuat (+++) Sangat Kuat



Gambar 1. Kromatogram Senyawa Fitosterol Ekstrak Etanol Biji Kedelai (*Glycine max*). (A) Stigmasterol, (B) Kampesterol, (C) β -Sitosterol, (D) Lanosterol

Uji *In Silico* Fitosterol Biji Kedelai terhadap GLUT-4

Aktivasi GLUT-4 oleh fitosterol dalam biji kedelai (*Glycine max*) dievaluasi secara *in silico*. Hasil penambatan molekul dapat dilihat pada gambar 2 dan tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji Penambatan Molekul Fitosterol Biji Kedelai terhadap GLUT-4

Ligan	Ikatan Energi Bebas (Kcal/mol)	Interaksi Permukaan (Å)	Asam Amino yang sama dengan Standar	Jumlah Asam Amino yang sama dengan Standar
Stigmasterol	-10.61	976.75	PHE395	1
β -Sitosterol	-10.45	976.98	PHE395	1
Kampesterol	-10.27	949.38	PHE395	1
Lanosterol	-10.67	995.51	PHE38	1
Staurosporin*	-9.18	956.15	GLY400, PHE38, PHE395	3

*Standar Pembanding

Stigmasterol, β -Sitosterol, Kampesterol dan Lanosterol memiliki nilai ikatan energi bebas (ΔG) yang hampir sama tetapi lebih rendah dibandingkan dengan standar pembanding. Ikatan fitosterol biji kedelai lebih kuat dibandingkan Staurosporin sebagai standar pembanding. Hal ini ditunjang oleh interaksi permukaan yang tinggi antara protein target dengan fitosterol dalam biji kedelai.

Uji Penambatan Molekul Senyawa Fitosterol Biji Kedelai Terhadap DPP-4

Aktivitas DPP-4 inhibitor senyawa fitosterol biji kedelai secara *in silico* dapat dilihat pada gambar 3 dan tabel 3.

Tabel 3. Hasil Uji Penambatan Molekul Senyawa Fitosterol Biji Kedelai dengan DPP-4

Ligan	Ikatan Energi Bebas (Kcal/mol)	Konstanta Inhibisi (μ M)	Interaksi Permukaan (Å)	Asam Amino yang sama dengan Standar	Jumlah Asam Amino yang sama dengan Standar
Stigmasterol	-7.11	6.16	931.16	PHE357	1
β -Sitosterol	-6.94	8.13	908.89	PHE357, TYR666	2
Kampesterol	-6.84	9.74	877.50	PHE357	1
Lanosterol	-7.03	7.06	860.98	PHE357	1
Vildagliptin*	-7.76	2.03	512.40	GLU206, SER630, TYR666, PHE357	5

*Standar Pembanding

Nilai ikatan energi bebas paling rendah atau yang berikatan kuat dengan ligan adalah Stigmasterol diikuti Lanosterol, β -Sitosterol dan kampesterol. Demikian pula nilai konstanta inhibisi Stigmasterol paling kuat menghambat aktivitas DPP-4 tetapi masih lebih rendah dibandingkan Vildagliptin sebagai standar pembanding. Aktivitas inhibisi yang kuat dari stigmasterol ditunjang oleh interaksi permukaannya yang memiliki nilai paling besar dengan DPP-4.

Aktivitas α -Glukosidase Inhibitor Senyawa Fitosterol Biji Kedelai Secara *In Silico*

Aktivitas inhibisi dari fitosterol dalam biji kedelai terhadap enzim α -glukosidase secara *in silico* dapat dilihat pada gambar 4 dan tabel 4.

Tabel 4. Hasil Uji Penambatan Molekul Senyawa Fitosterol Biji kedelai terhadap α -Glukosidase

Ligan	Ikatan Energi Bebas (Kcal/mol)	Konstanta Inhibisi (μ M)	Interaksi Permukaan (Å)	Asam Amino yang sama dengan Standar	Jumlah Asam Amino yang sama dengan Standar
Stigmasterol	-10.57	17.8	893.79	PHE155, PHE156	2
β -Sitosterol	-10.26	30.0	902.57	PHE155, PHE156	2
Kampesterol	-7.79	93.6	872.98	PHE155, PHE156	2
Lanosterol	-7.86	162.2	894.78	PHE155, PHE156	2
Acarbose*	-7.99	140	1033.81	THR152, PHE156, PRO115, PHE155	4

*Standar Pembanding

Stigmasterol memiliki energi bebas ikatan yang paling rendah atau berikatan paling kuat dibandingkan dengan senyawa lain. Nilai konstanta inhibisi Stigmasterol lebih rendah atau paling kuat menghambat aktivitas α -glukosidase dibandingkan dengan senyawa fitosterol lainnya maupun dengan standar pembanding. Sedangkan untuk interaksi permukaan β -Sitosterol memiliki nilai paling tinggi dibandingkan senyawa lain.

PEMBAHASAN

Identifikasi Fitosterol Biji Kedelai dengan Metode LC-MS/MS (Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry)

Fitosterol dalam biji kedelai yang teridentifikasi dengan metode LC-MS/MS ada 4 yaitu: Stigmasterol, β -Sitosterol, Kampesterol dan Lanosterol. Zat aktif tersebut dapat diketahui dengan mengevaluasi nilai *Selected Reaction Monitoring* (SRM) pada kromatogram. SRM adalah parameter penilaian pada LC-MS/MS untuk mengukur protein maupun zat aktif secara akurat dan konsisten. SRM juga digunakan sebagai metode validasi untuk mengkonfirmasi daftar protein target maupun senyawa aktif yang diperoleh dalam penelitian global atau penemuan sebelumnya¹⁰. Senyawa fitosterol biji kedelai masuk ke dalam kelompok metabolit sekunder dan memiliki aktivitas biologis sehingga dapat digunakan sebagai bahan baku obat-obatan alami¹¹.

Stigmasterol merupakan salah satu kelompok fitosterol pada tanaman yang berfungsi menjaga keseimbangan dari membran fosfolipid sel tumbuhan. Struktur kimia fitosterol mirip dengan kolesterol pada membran sel hewan. Senyawa ini tidak larut air, akan tetapi larut dalam alkohol (pelarut organik)¹². Stigmasterol adalah fitosterol tak jenuh pada berbagai tanaman obat, salah satunya pada biji kedelai. Stigmasterol dapat menghambat biosintesis kolesterol melalui penghambatan dari sterol $\Delta 24$ reduktase pada sel. Pembentukan kolesterol yang berlebihan di hepar juga dihambat sehingga dapat memperbaiki gambaran profil lipid darah¹³. Selain itu stigmasterol juga berpotensi sebagai anti-inflamasi, anti-tumor, anti-osteoarthritis dan memiliki efek hipoglikemi, serta antioksidan¹⁴.

β -sitosterol adalah fitosterol yang dominan pada tumbuhan dan berfungsi sebagai stabilisasi membran sel¹⁵. β -Sitosterol berwarna putih menyerupai lilin dan memiliki aroma yang khas.

Senyawa ini bersifat hidrofobik dan larut dalam etanol tetapi tidak larut dalam air¹⁶. β -Sitosterol umumnya dianggap sebagai suplemen nutrisi yang aman, alami, dan efektif serta telah terbukti memiliki banyak manfaat. Uji laboratorium pada tikus menunjukkan bahwa β -Sitosterol tidak menyebabkan genotoksitas dan sitotoksitas¹⁷. β -Sitosterol dapat ditemukan pada buah alpukat, minyak jagung dan kedelai serta menunjukkan efek anti-diabetes dengan meningkatkan produksi dan sensitivitas insulin¹⁸. Di samping itu β -Sitosterol juga berperan sebagai anti-kolesterol, anti-inflamasi, imunomodulator dan antioksidan¹⁹.

Kampesterol adalah turunan steroid yang merupakan sterol paling sederhana. Senyawa ini dapat ditemukan pada daun bintangur, biji kedawung, biji buncis dan biji kedelai²¹. Kampesterol berperan dalam menurunkan kolesterol darah serta memiliki efek anti-karsinogenik. Selain itu senyawa ini juga memiliki efek anti-angiogenik dengan menghambat proliferasi sel endotel dan diferensiasi kapiler²⁰.

Lanosterol adalah triterpenoid tetracyclic yang merupakan senyawa precursor steroid hewan dan jamur, sebaliknya steroid tanaman diproduksi melalui cycloartenol. Senyawa ini juga terdapat pada tanaman tingkat tinggi yang memiliki jalur biosintetik untuk menghasilkan lanosterol terutama pada tanaman dikotil²². Studi laboratorium secara *in vivo* dan *in vitro* menunjukkan bahwa efek lanosterol lebih efektif pada pasien dengan katarak kongenital dan katarak pediatrik²³.

Senyawa alami pada tumbuhan adalah molekul kimia berupa metabolit primer dan metabolit sekunder. Metabolit primer digunakan untuk pertumbuhan, perkembangan dan reproduksi sedangkan metabolit sekunder sebagai senyawa penunjang kehidupan tumbuhan. Alkaloid, terpenoid, flavonoid, tannin dan steroid merupakan senyawa metabolit sekunder yang dipelajari dan berfungsi sebagai bahan baku obat atau senyawa penuntun (*lead compound*)²⁴.

Herbal anti-diabetik ditandai potensinya dalam menurunkan kadar gula darah. Efek hipoglikemik dikendalikan oleh senyawa fitosterol, flavonoid dan alkaloid. Beberapa zat aktif dalam herbal bekerja sebagai anti-diabetik dengan mekanisme meningkatkan sensitivitas insulin, inhibisi DPP-4, analog GLP-1 dan α -glukosidase inhibitor serta aktivasi GLUT-4. Herba anti diabetes memiliki beberapa senyawa aktif sehingga memiliki kemungkinan untuk bekerja melalui mekanisme *single* maupun *multiple* aksi dan menghasilkan interaksi baik yang bersifat sinergistik maupun antagonistik²⁵.

Penambatan Molekul Senyawa Fitosterol Biji Kedelai terhadap GLUT-4

Berdasarkan studi *in silico*, Lanosterol memiliki energi ikatan bebas paling rendah sehingga mampu berikatan secara stabil dan spontan dengan GLUT-4. Hal tersebut ditunjang oleh nilai interaksi

permukaan yang tinggi antara Lanosterol dengan protein target. Semakin tinggi interaksi permukaan maka semakin mudah suatu molekul untuk berikatan dengan targetnya. Ikatan lanosterol dengan protein target lebih kuat dibandingkan dengan Staurosporin sebagai pembanding. Hal ini disebabkan interaksi permukaan antara Staurosporin dengan GLUT-4 lebih rendah dibandingkan lanosterol. Staurosporin dapat dijadikan sebagai pembanding apabila memiliki nilai ikatan energi bebas lebih dari -7.00 kcal/mol. Kondisi tersebut menggambarkan bahwa Staurosporin memiliki ikatan yang stabil sebagai standar pembanding²⁸.

In silico (*Molecular docking*) berperan untuk memprediksi aktivitas ligan atau zat aktif terhadap protein target dalam proses penemuan obat baru. *Molecular docking* menggunakan media pemodelan berbasis komputer untuk mencari senyawa yang berpotensi dengan mengevaluasi nilai ikatan energi bebas. Nilai ikatan energi bebas yang rendah menunjukkan spontanitas dan stabilisasi ikatan yang kuat antara ligan dengan protein target²⁶. Parameter lainnya adalah interaksi permukaan yang menggambarkan pengenalan ligan terhadap protein target. Nilai interaksi permukaan yang besar menunjukkan peluang zat aktif untuk berinteraksi dengan protein target sehingga aktivitas biologisnya tinggi²⁷.

Ikatan residu asam amino pada sisi aktif berperan penting untuk menentukan aktivitas biologisnya. Staurosporin memiliki tiga asam amino yaitu Gly400, Phe38 dan Phe395 sedangkan lanosterol memiliki ikatan asam amino yang sama dengan pembanding yaitu Phe38. Kondisi tersebut diprediksi menghasilkan ikatan yang kuat atau peningkatan aktivitas biologis yang tinggi.

Senyawa aktif diprediksi mempunyai ikatan yang kuat terhadap protein target apabila memiliki sisi aktif asam amino yang sama dengan pembandingnya. Selain ikatan energi bebas dan interaksi permukaan, jumlah sisi aktif pada protein target juga menentukan efek biologis yang akan ditimbulkan oleh ligan²⁸.

Uji In Silico Senyawa Fitosterol Biji Kedelai dengan DPP-4

Hasil *molecular docking* menunjukkan Stigmasterol memiliki nilai konstanta inhibisi paling rendah dibandingkan dengan senyawa lain. Konstanta inhibisi (K_i) menunjukkan kemampuan dalam penghambatan terhadap protein target, semakin rendah nilai K_i maka semakin besar kemampuan dalam menghambat protein target⁶. Nilai K_i berkaitan dengan nilai ikatan energi bebas dan interaksi permukaan dari senyawa Stigmasterol. Nilai energi bebas dan interaksi permukaan pada Stigmasterol menunjukkan ikatan yang kuat dibandingkan senyawa lain, sehingga dapat menunjang nilai penghambatan atau K_i terhadap enzim DPP-4.

Nilai K_i Stigmasterol lebih tinggi dibandingkan Vildagliptin sebagai standar

pembandingan. Hal tersebut ditunjang oleh nilai ikatan energi bebas vildagliptin dengan DPP-4 yaitu -7.76 kcal/mol yang lebih rendah dibandingkan stigmasterol. Aktivitas penghambatan DPP-4 berkaitan dengan ikatan ligan pada sisi aktif asam amino DPP-4. Terdapat lima sisi aktif asam amino dari DPP-4 yang diprediksi sebagai tempat ikatan ligan inhibitor yaitu Glu206, Glu205, Ser630, Tyr666 dan Phe357²⁹. Stigmasterol berikatan dengan salah satu asam amino dari DPP-4 yaitu Phe357. Uji *in vitro* menunjukkan senyawa Stigmasterol dalam *Urena lobate* dan *T. foenum-graecum* diprediksi memiliki efek penghambatan pada enzim DPP-4 yang berperan meregulasi kadar gula darah^{30,31}. Vildagliptin memiliki bioavailabilitas yang baik dan tersedia di Indonesia sebagai OAD golongan DPP-4 inhibitor sehingga dijadikan sebagai standar pembandingan dalam penelitian ini¹. Selain itu, Vildagliptin memiliki nilai ikatan energi bebas yang lebih dari -7.00 kcal/mol sehingga memenuhi syarat sebagai pembandingan²⁸.

Molecular Docking Fitosterol Biji Kedelai terhadap α -Glukosidase

Stigmasterol pada biji kedelai berikatan paling kuat dengan α -glukosidase. Nilai ikatan tersebut menunjang aktivitas penghambatannya terhadap α -glukosidase yang ditunjukkan dengan nilai K_i paling rendah. Nilai K_i pada Acarbose sebagai standar pembandingan lebih tinggi dibandingkan senyawa fitosterol pada biji kedelai. Hal ini disebabkan oleh nilai ikatan energi bebas yang lebih tinggi atau ikatannya lebih rendah terhadap protein target dibandingkan senyawa aktif dalam biji kedelai.

Penghambatan aktivitas enzim α -glukosidase juga dipengaruhi oleh ikatan ligan pada sisi aktif protein target. Enzim α -glukosidase memiliki empat sisi aktif yaitu Thr152, Phe156, Pro116 dan Phe155³². Pada penelitian ini Stigmasterol berikatan pada dua sisi aktif asam amino yaitu Phe156 dan Phe155. Perbedaan posisi ikatan antara ligan pada sisi aktif α -glukosidase dapat mempengaruhi aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase. Uji laboratorium secara *in vitro*, senyawa stigmasterol diprediksi dapat menghambat enzim α -amylase dan α -glucosidase³¹. Acarbose dapat dijadikan sebagai pembandingan karena tersedia di Indonesia sebagai OAD golongan α -glukosidase inhibitor dan memiliki harga yang murah¹. Selain itu nilai ikatan energi bebas Acarbose dengan α -glukosidase adalah -7.99 kcal/mol sehingga memenuhi persyaratan sebagai pembandingan pada uji *molecular docking*²⁸.

KESIMPULAN

Berdasarkan pembahasan yang dilakukan maka dapat diambil kesimpulan hasil penelitian sebagai berikut:

1. Fitosterol pada biji kedelai antara lain β -Sitosterol, Kampesterol, Stigmasterol dan lanosterol.

2. Stigmasterol dalam biji kedelai diprediksi lebih kuat menghambat aktivitas enzim DPP-4, tetapi lebih lemah dibandingkan Vildagliptin sebagai DPP-4 inhibitor standar.
3. Stigmasterol dalam biji kedelai diprediksi lebih kuat menghambat aktivitas enzim α -glukosidase dan lebih kuat dibandingkan Acarbose sebagai α -glukosidase inhibitor standar.
4. Lanosterol diprediksi lebih kuat meningkatkan aktivitas GLUT-4 dan lebih kuat dibandingkan Staurosporin sebagai agonis GLUT-4 standar.

SARAN

1. Perlu penelitian lebih lanjut secara *in vitro* untuk mengetahui efek anti diabetes pada biji kedelai dalam bentuk isolat maupun ekstrak kasar.
2. Perlu penelitian lebih lanjut secara *in vivo* untuk mengetahui efek anti diabetes pada biji kedelai dalam bentuk isolat maupun ekstrak kasar.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada IOM FK UNISMA yang telah mendanai penelitian ini. Ucapan terima kasih kepada Dr. H. Yudi Purnomo, S.Si, Apt, M.Kes dan dr. Reza Hakim, M.Biomed selaku dosen pembimbing, dr. Dini Sri Damayanti, M.Kes selaku tim kelayakan, yang telah memberikan bimbingan kepada penulis. Ucapan terima kasih juga ditujukan kepada semua pihak yang telah membantu dalam penelitian dan penulisan jurnal ini.

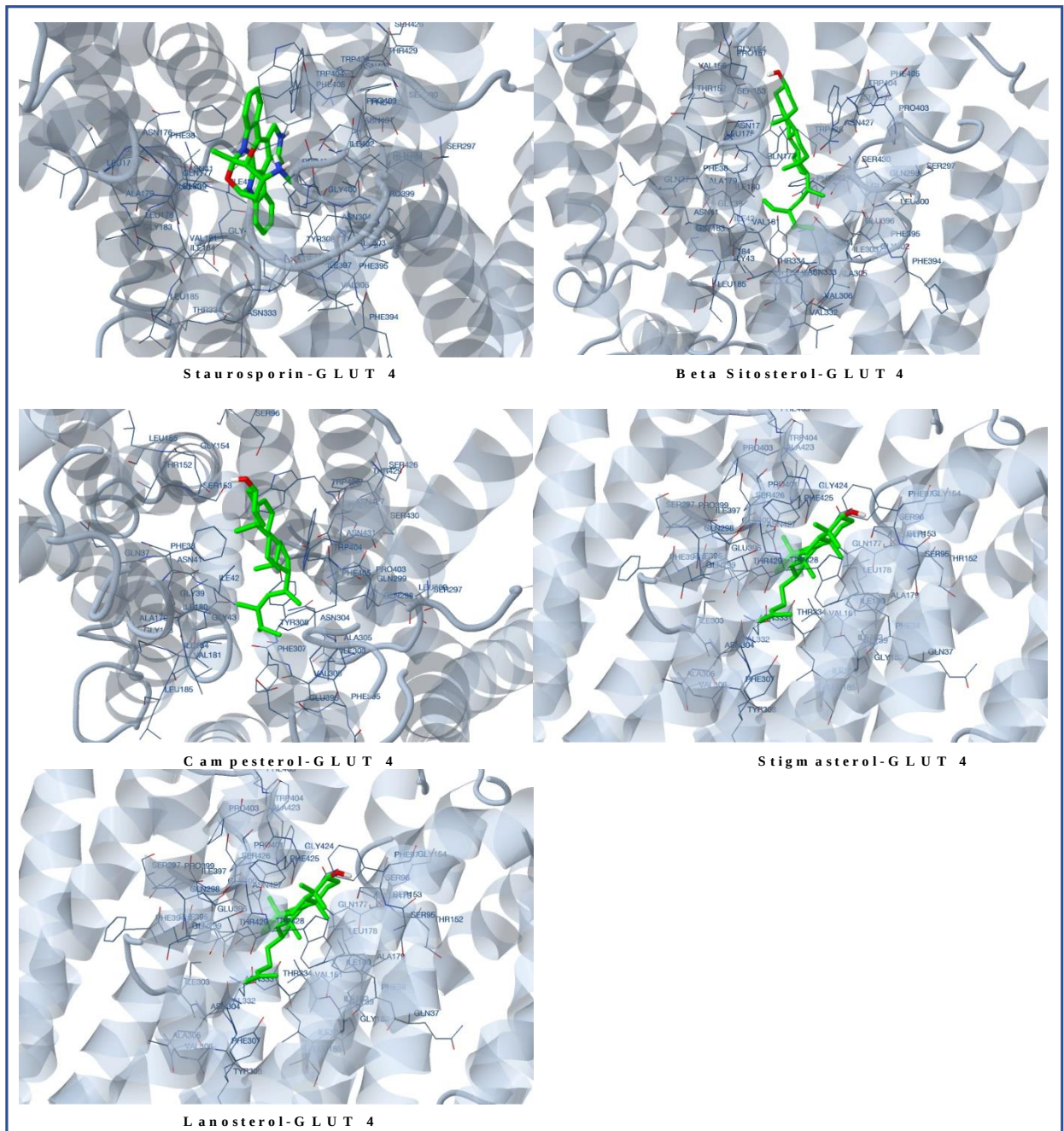
DAFTAR PUSTAKA

1. Soelistijo, SA. Perkumpulan Endokrinologi Indonesia: Konsensus Pengelolaan dan Pencegahan Diabetes Melitus Tipe 2 di Indonesia, Edisi Pertama, PB PERKENI. Jakarta. 2015
2. Wihastuti, TA. Dampak Pemberian Susu Kedelai (*Glycine spp*) terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Tikus Model Diabetes Melitus Tipe 2. *Jurnal Ilmu Keperawatan Fakultas Ilmu Kedokteran Universitas Brawijaya Malang*. 2011; 2 (1): 58-65
3. Mustofa, MS. Mukhtar, D. Susmiarsih, T. Royhan, A. Pengaruh Kedelai (*Glycine max* (L) *Merril*) terhadap Kadar Glukosa Darah dan Ekspresi Insulin Sel β Pankreas pada Tikus Diabetik. *Jurnal kedokteran yarsi*. 2010;18 (2): 094-103.
4. Cahyono, AD. Manfaat Susu Kedelai Sebagai Terapi Penurun Kadar Glukosa Darah Pada Klien Diabetes Mellitus: Study eksperimental di poli penyakit dalam RSUD Pare Kabupaten Kediri. *Jurnal AKP*. 2011;2 (2): 28-26
5. McConkey BJ, Sobolev V, Edelman M. The performance of current methods in ligand-protein docking. *Current Science*. 2002;83:845-855 44

6. Rosiarto B.D., Puspaningtyas A.R., Holidah. D. Studi Aktivitas Antioksidan Senyawa 1-(p-klorobenzoiloksimetil)5-fluorourasil dengan Metode Molecular Docking dan Metode DPPH. *e-Jurnal Pustaka Kesehatan*. 2014;2 (1): 96-98
7. BALITKABI. [online] Balitkabi.litbang.pertanian.go.id. Available at: <http://balitkabi.litbang.pertanian.go.id/wpcontent/uploads/2015/06/olahan%20kedelai%202016>. 2016 [Accessed 17 Aug. 2018]
8. Yulianingtyas, A. and Kusmartono, B. Optimasi Volume Pelarut Dan Waktu Maserasi Pengambilan Flavonoid Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). *Teknik Kimia*. 2016;10(2), pp.58-64
9. Rakibe, U., Tiwari, R., Mahajan, A., Rane, V. and Wakte, P. LC and LC–MS/MS studies for the identification and characterization of degradation products of acebutolol. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 2018; <https://doi.org/10.1016/j.jppha.2018.03.001>
10. Bilbao, A. Encyclopedia of Bioinformatics and Computational Biology: Proteomics Mass Spectrometry Data Analysis Tools. *Reference Module in Life Sciences*. 2018; 2, pp.84-95
11. Mo, S., Dong, L., Hurst, W. and van Breemen, R. Quantitative Analysis of Phytosterols in Edible Oils Using APCI Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry. *Lipids*. 2013; 48(9), pp.949-956.
12. Rasyid, A. Analisis Metabolit Sekunder, Aktivitas Antibakteri Dan Komposisi Golongan Senyawa Dalam Ekstrak Teripang *Bohadschia* sp. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*. 2016;8(2), pp.645-653
13. Ros, M., Sterk, S., Verhagen, H., Stalenhoef, A. and de Jong, N. Phytosterol consumption and the anabolic steroid boldenone in humans: A hypothesis piloted. *Food Additives and Contaminants*. 2007; 24(7), pp.679-684.
14. Batta, A., Xu, G., Honda, A., Miyazaki, T. and Salen, G. Stigmasterol reduces plasma cholesterol levels and inhibits hepatic synthesis and intestinal absorption in the rat. *Metabolism*. 2006; 55(3), pp.292-299.
15. Kaur, N., Chaudhary, J., Jain, A. and Kishore, L. STIGMASTEROL: A COMPREHENSIVE REVIEW. *International journal of pharmaceutical sciences and research*. 2011; 2(9), pp.2259-2265.
16. Yang, G., Shu, X., Li, H., Chow, W., Cai, H., Zhang, X., Gao, Y. and Zheng, W. Prospective cohort study of soy food intake and colorectal cancer risk in women. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2008; 89(2), pp.577-583.
17. Widyaningsih, T., Wijayanti, N. and Nugrahini, N. Pangan Fungsional: Aspek Kesehatan, Evaluasi, dan Regulasi. 1st ed. Malang: Universitas Brawijaya Press. 2007; p.163.
18. Paniagua-Pérez, R., Madrigal-Bujaidar, E., Reyes-Cadena, S., Molina-Jasso, D., Gallaga, J., Silva-Miranda, A., Velazco, O., Hernández, N. and Chamorro, G. Genotoxic and Cytotoxic Studies of Beta-Sitosterol and Pteropodine in Mouse. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. 2005; (3), pp.242-247.
19. Rudkowska I, AbuMweis S, Nicolle C, Jones P. Cholesterol-Lowering Efficacy of Plant Sterols in Low-Fat Yogurt Consumed as a Snack or with a Meal. *Journal of the American College of Nutrition*. 2008; 27(5):588-595.
20. Nguyen H, Neelakadan A, Quach T, Valliyodan B, Kumar R, Zhang Z et al. Molecular characterization of Glycine max squalene synthase genes in seed phytosterol biosynthesis. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2013; 73, pp.23-32.
21. Giyai, A. Tumbuhan Obat Tradisional Papua. 1st ed. Jayapura: Nulisbuku Jendela Dunia. 2016; pp.25-29.
22. Suzuki M, Xiang T, Ohya K, Seki H, Saito K, Muranaka T et al. Lanosterol Synthase in Dicotyledonous Plants. *Plant and Cell Physiology*. 2006; 47(5):565-571.
23. Giner, J., Berkowitz, J. and Andersson, T. Nonpolar Components of the Latex of *Euphorbia* plus. *Journal of Natural Products*. 2000; 63(2), pp.267-269.
24. Venkatesh, R., Gurav, P. and Tibrewal, S. Comment to: Effect of lanosterol on human nuclei. *Indian Journal of Ophthalmology*. 2016; 64(6), p.475.
25. Chang C, Lin Y, Bartolome A, Chen Y, Chiu S, Yang W. Herbal Therapies for Type 2 Diabetes Mellitus: Chemistry, Biology, and Potential Application of Selected Plants and Compounds. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2013, pp.1-33.
26. Saifudin, A. Senyawa Alam Metabolit Sekunder Teori, Konsep, dan Teknik Pemurnian. 1st ed. Yogyakarta: DEEPUBLISH. 2014
27. Yuliana, Dewi. In Silico Screening of Chemical Compounds from Roselle (*Hibiscus sabdariffa*) as Angiotensin-I Converting Enzyme Inhibitor Used PyRx Program. *ARPN Journal of Science and Technology*. 2013;3(12), pp.1158-1160
28. Damayanti D, Utomo D, Kusuma C. Revealing the potency of *Annona muricata* leaves extract as FOXO1 inhibitor for diabetes mellitus treatment through computational study. *In Silico Pharmacology*. 2017; 5(1).
29. Bikadi Z, Hazai E. Application of the PM6 semi-empirical method to modeling proteins enhances docking accuracy of AutoDock. *Journal of Cheminformatics*. 2009; 1(1):15.
30. Purnomo Y, Soeatmadji D, Sumitro S, Widodo M. Anti-diabetic potential of *Urena lobata* leaf extract through inhibition of dipeptidyl peptidase IV activity. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2015; 5(8):645-649.
31. Riyanti S, Suganda A, Sukandar E. Dipeptidyl peptidase-iv inhibitory activity of some Indonesian medicinal plants. *Asian Journal of*

- Pharmaceutical and Clinical Research*. 2016; 9(2):375-377.
32. Stewart J. Application of the PM 6 method to modeling proteins. *Journal of Molecular Modeling*. 2008; 15(7):765-805.
 33. Sanders, M., Ruzicka, J., McHale, K. and Shipkova, P. Accurate and Sensitive All-Ions Quantitation Using Ultra-High Resolution LC/MS. 2009 [ebook] California: *Thermo Fisher Scientific*, p.476.
 34. O'Boyle N, Banck M, James C, Morley C, Vandermeersch T, Hutchison G. Open Babel: An open chemical toolbox. *Journal of Cheminformatics*. 2011; 3(1):33.
 35. Waterhouse A, Bertoni M, Bienert S, Studer G, Tauriello G, Gumienny R et al. SWISS-MODEL: homology modelling of protein structures and complexes. *Nucleic Acids Research*. 2018; 46(W 1):W 296-W 303.

G a m b a r 2. Interaksi Fitosterol Biji Kedelai terhadap G L U T - 4



Vildagliptin - DPP 4

Beta Sitosterol - DPP 4

Campesterol - DPP 4

Stigmasterol - DPP 4

Lanosterol - DPP 4

Alpha-Glucosidase

Beta-Sitosterol-Alpha-Glucosidase

Campesterol-Alpha-Glucosidase

Stigmasterol-Alpha-Glucosidase

Lanosterol-Alpha-Glucosidase