

PREDIKSI TOKSISITAS SENYAWA ANTIOKSIDAN ALAMI DAN ANALISIS INTERAKSINYA TERHADAP RESEPTOR VEGF-1 MENGGUNAKAN METODE *MOLECULAR DOCKING*

TOXICITY PREDICTION OF NATURAL ANTIOXIDANTS COMPOUNDS AND THEIR INTERACTION WITH VEGFR-1 USING MOLECULAR DOCKING METHOD

Dina Pratiwi^{1*}, M. Insanu², Sophi Damayanti²

¹Sekolah Tinggi Farmasi Muhammadiyah Tangerang

²Sekolah Farmasi, Institut Teknologi Bandung

*Corresponding Author E-mail: dinapratiwi10@ymail.com

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 could be potential compounds as alternative food additives. However, not many studies on the toxicological effect of natural antioxidants. This research was conducted to obtain predictive toxicity of three hundred natural antioxidant compounds from plants using T.E.S.T., Toxtree, ADMET predictor, and QSAR Toolbox. Analysis of interaction natural antioxidant compounds with VEGFR-1 by molecular docking method using Autodock 4.2.6. The result of molecular docking method showed interaction between toxic compounds with the receptor through the similarity of amino acid residues that is adjacent to the comparator ligand and hydrogen bonding. Interaction of toxic compounds with VEGF-1 receptor (3HNG) on carcinogenicity tests showed that rosmarinic acid and capsaicin had the lowest free binding energy -8,54 and -8,11 kcal/mol, respectively.

Keyword: *natural antioxidant, molecular docking, VEGFR-1*

ABSTRAK

Antioksidan merupakan zat yang mampu melindungi pangan dari proses oksidasi. Penggunaan antioksidan sintetik telah menjadi perdebatan dikarenakan efek negatif yang ditimbulkannya. Antioksidan alami dari tumbuhan dapat menjadi senyawa potensial sebagai bahan tambahan pangan alternatif. Namun belum banyak penelitian mengenai efek toksik antioksidan alami. Penelitian ini dilakukan untuk memperoleh prediksi toksisitas 300 senyawa antioksidan alami tumbuhan menggunakan metode *in silico* dan analisis interaksinya dengan reseptor VEGF-1 melalui metode *molecular docking*. Prediksi toksisitas senyawa dilakukan menggunakan perangkat lunak T.E.S.T., Toxtree, ADMET predictor, dan QSAR Toolbox. Analisis senyawa uji dengan reseptor VEGF-1 melalui *molecular docking* dilakukan menggunakan perangkat lunak *Autodock* 4.2.6. Hasil analisis *molecular docking* terlihat bahwa terdapat interaksi antara senyawa uji dengan reseptor melalui adanya kemiripan residu asam amino yang berdekatan seperti pada senyawa pembanding dan adanya ikatan hidrogen. Interaksi dengan reseptor VEGF-1 pada uji karsinogenitas menunjukkan asam rosmarinat dan kapsaisin memiliki energi bebas ikatan terendah dengan nilai -8,54 dan -8,11 kcal/mol.

Kata kunci: antioksidan alami, *molecular docking*, VEGFR-1

PENDAHULUAN

Pangan adalah segala sesuatu yang berasal dari sumber hayati dalam bentuk olahan maupun tidak diolah yang diperuntukkan sebagai makanan atau minuman bagi konsumsi

manusia. Dalam penyimpanannya, bahan pangan dapat mengalami kerusakan. Salah satu proses kimia yang dapat terjadi yaitu oksidasi terutama pada bahan pangan yang mengandung lemak. Upaya untuk mencegah

terjadinya oksidasi pada bahan pangan yaitu dengan pemberian bahan tambahan pangan berupa antioksidan (El-Samragy, 2012). Namun penggunaan antioksidan sintetik seperti BHA, BHT, gallat dan TBHQ dilaporkan dapat menginduksi kanker dan menunjukkan aktivitas mutagenik secara *in vivo* (Ito dkk., 1982; Shahidi dan Wanasundara, 1992).

Antioksidan alami ditemukan di hampir semua tumbuhan, mikroorganisme, jamur, dan jaringan hewan. Sebagian antioksidan alami adalah senyawa fenolik dan kelompok yang paling penting dari antioksidan alami adalah tokoferol, asam askorbat, karotenoid, flavonoid dan asam fenolat (Pokorny dkk., 2001). Menurut beberapa penelitian antioksidan alami dari tumbuhan dalam bentuk ekstrak yang diperoleh dari berbagai sumber seperti buah-buahan (anggur, delima, kinnow), sayuran (brokoli, kentang, labu, jelatang), bumbu dan rempah-rempah (teh, rosemary, oregano, kayu manis, sage, thyme, mint, jahe, cengkeh) diselidiki dapat digunakan untuk menurunkan oksidasi lipid (Shah dkk., 2014).

Saluran pencernaan merupakan organ vital yang berperan penting dalam mengolah makanan yang masuk ke dalam tubuh. Kasus kejadian kanker pada tahun 2013 di Amerika Serikat menunjukkan bahwa kasus kejadian kanker kolorektal dan pankreas menduduki posisi ketiga dan keempat setelah kanker paru dan prostat (Siegel dkk., 2013).

Vascular endothelial growth factor receptor (VEGFR) merupakan reseptor yang berperan dalam mengatur angiogenesis pada sel kanker. VEGF-1 diekspresikan pada *cell line* kanker dan tumor serta pada sel kanker pankreas dan kolorektal. Aktivasi VEGFR-1 dapat meningkatkan migrasi tumor dan penyebarannya ke jaringan lain (Abdelrahim, 2007).

Sistem pengujian toksisitas dalam pangan telah diusulkan oleh *US Food Safety Council* untuk memperkirakan tingkat toksisitas dan bahaya dari suatu senyawa (Deshpande, 2002). Metode toksikologi *in* 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 dkk. (2011) membuat laporan mengenai penggunaan metode komputasi untuk penilaian toksikologi zat kimia dalam makanan.

Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh prediksi toksisitas senyawa antioksidan alami menggunakan metode *in silico* dan analisis interaksinya pada reseptor VEGF-1 melalui metode *molecular docking*.

MATERI DAN METODE

Alat

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.

Bahan

Senyawa uji antioksidan alami yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari data eksperimen beberapa penelitian ilmiah mengenai potensi senyawa dan ekstrak tumbuhan sebagai bahan tambahan pangan antioksidan alami (Pokorny dkk, 2001; Brewer, 2011; Shah dkk, 2014). Data struktur 3D kristal reseptor VEGF-1 (kode PDB: 3HNG) yang digunakan diperoleh dari *Protein Data Bank* (PDB) dengan situs <http://www.rcsb.org/pdb/>.

Preparasi Senyawa

Struktur senyawa uji antioksidan alami dibangun menggunakan Chem Office 2004 versi 8.0.3, kemudian dioptimasi menggunakan Hyperchem versi 8.03 secara Semi Empirik

dengan metode PM3. Untuk perubahan format file dilakukan menggunakan perangkat lunak Open Babel 2.2.3.

Prediksi Toksisitas

Prediksi toksisitas senyawa antioksidan alami meliputi prediksi mutagenitas, karsinogenitas, toksisitas reproduksi, toksisitas akut dan toksisitas kronik. Prediksi toksisitas dilakukan dengan menggunakan beberapa perangkat lunak, yaitu T.E.S.T versi 4.1, Toxtree, ADMET predictor versi 7.0.0004, dan QSAR Toolbox versi 3.2.

Prediksi toksisitas akut dilakukan menggunakan perangkat lunak T.E.S.T dengan metode *Concencus* serta ADMET predictor dengan metode 2D dan 3D dengan hasil berupa nilai LD₅₀. Prediksi mutagenitas senyawa uji dilakukan menggunakan perangkat lunak T.E.S.T dengan metode *Cocencus*, Toxtree dengan metode *In vitro mutagenicity (Ames Test) alerts by ISS* serta ADMET predictor dengan metode 2D dan 3D. 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 T.E.S.T dengan metode *Concencus* serta 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.

Interpretasi Data Hasil Prediksi Toksisitas

Hasil prediksi toksisitas dari beberapa perangkat lunak akan disimpulkan sebagai berikut:

1. Apabila hasil prediksi semua perangkat lunak positif maka disimpulkan bahwa hasil prediksi tersebut positif.
2. Apabila hasil prediksi semua perangkat lunak negatif maka disimpulkan bahwa hasil prediksi tersebut negatif.
3. Apabila hasil prediksi perangkat lunak berbeda antara satu dengan yang lain maka dilakukan kajian lebih lanjut mengenai prediksi mekanisme toksisitasnya, yaitu :
 - a. Jika hasil prediksi mekanismenya menyatakan positif, maka disimpulkan bahwa hasil prediksi toksisitas tersebut positif.
 - b. Jika hasil prediksi mekanismenya menyatakan negatif, maka disimpulkan bahwa hasil prediksi toksisitas tersebut negatif.

Validasi Metode *Molecular Docking*

Validasi metode *molecular docking* dilakukan dengan metode *redocking* menggunakan ligan ko-kristal yang terdapat pada masing-masing reseptor. Parameter yang digunakan untuk menilai validitas yaitu nilai RMSD. Reseptor yang digunakan dinyatakan valid apabila nilai RMSD lebih kecil atau sama dengan 2 Å (Kontoyianni dkk., 2004).

Molecular Docking

Senyawa antioksidan yang memiliki sifat karsinogen kemudian dianalisis dengan *molecular docking* menggunakan perangkat lunak Autodock 4.2.6 dan AutodockTools-1.5.6rc3. Proses *griding* dan *docking* dijalankan melalui program Command Prompt. Proses *docking* dilakukan replikasi sebanyak 10 kali dengan 1 kali proses menghasilkan 10 pose. Hasil akhir *docking* diperoleh sebanyak 100 pose.

Analisis Hasil *Molecular Docking*

Penentuan konformasi ligan hasil *docking* dilakukan dengan memilih konformasi ligan yang memiliki energi ikatan paling rendah yang

kemudian dianalisa menggunakan Autodock 4.2.6.. Parameter hasil *molecular docking* yang dianalisa meliputi energi bebas ikatan, residu asam amino, ikatan hidrogen, dan konstanta inhibisi prediksi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Toksistas akut oral merupakan efek toksik suatu senyawa yang terjadi setelah diberikan melalui administrasi oral dengan dosis tunggal atau dosis berulang dalam jangka waktu 24 jam. Uji toksistas akut umumnya dilakukan untuk menentukan nilai *Lethal Dose* 50 (LD₅₀) yang didefinisikan sebagai dosis yang dapat menyebabkan kematian sebanyak 50% dari jumlah hewan uji (OECD, 2001).

Prediksi toksistas akut dilakukan menggunakan perangkat lunak T.E.S.T. dan ADMET *predictor*. Kategori nilai LD₅₀ menurut Lu & Kacew (2009) dapat diklasifikasikan sebagai praktis tidak toksik (>15 g/kg), toksistas ringan (5–15 g/kg), toksistas sedang (0,5–5 g/kg), sangat toksik (50–500 mg/kg), amat sangat toksik (5–50 mg/kg), dan supertoksik (≤5 mg/kg). Semakin rendah nilai LD₅₀ suatu senyawa maka semakin besar sifat toksiknya. Dari hasil prediksi toksistas akut oral pada tikus menggunakan perangkat lunak T.E.S.T. dan ADMET *predictor*, sebanyak 43 senyawa termasuk dalam kategori sangat toksik, 255 senyawa termasuk dalam kategori toksistas sedang, dan 2 senyawa termasuk dalam kategori toksistas ringan.

Tabel 1. Hasil prediksi toksistas akut

Kategori	LD ₅₀ (mg/Kg)	Jumlah
Supertoksik	0,5 – 5	-
Amat sangat toksik	5 – 50	-
Sangat toksik	50 – 500	43
Toksistas	500 – 5.000	255

Tabel 2. Hasil prediksi toksistas senyawa antioksidan alami

Toksistas	Mutagenisitas	Karsinogenisitas	Toksistas Reproduksi	Jumlah
Toksik	+	+	+	105
Karsinogen dan toksik reproduksi	-	+	+	27
Mutagen dan toksik reproduksi	+	-	+	-

sedang		
Toksistas ringan	5.000 – 15.000	2
Tidak toksik	> 15.000	-

Keterangan: tidak ada senyawa (-)

Prediksi mutagenisitas dilakukan menggunakan tiga perangkat lunak, yaitu Toxtree, TEST dan ADMET *predictor* yang didasarkan pada adanya *structure alert* yang mengindikasikan bahwa pada senyawa tersebut terdapat gugus fungsi yang dapat menyebabkan mutasi pada *S. typhimurium* dalam *Ames Test* (Xu dkk., 2013). Dari hasil prediksi 175 senyawa mutagen diperoleh 7 substruktur yang bertanggung jawab atas mutagenisitas. Substruktur tersebut yaitu α,β-karbonil tak jenuh, polisiklik aromatik hidrokarbon, heterosiklik polisiklik aromatik hidrokarbon, dihidrofenantren, aldehid, alkenilbenzen, dan amin aromatik.

Prediksi karsinogenisitas senyawa antioksidan alami dilakukan menggunakan perangkat lunak *Toxtree*. Hasil prediksi karsinogenisitas senyawa antioksidan alami terhadap 300 senyawa disimpulkan bahwa 248 senyawa diprediksi positif bersifat karsinogen dan 52 senyawa bersifat tidak karsinogen. Substruktur senyawa antioksidan alami yang bertanggung jawab atas karsinogenisitas yaitu α,β-karbonil tak jenuh, polisiklik aromatik hidrokarbon, heterosiklik polisiklik aromatik hidrokarbon, dihidrofenantren, aldehid, dan alkenil benzen.

Validasi metode *molecular docking* dilakukan dengan metode *redocking* menggunakan ligan ko-kristal yang terdapat pada masing-masing reseptor. Hasil validasi menunjukkan bahwa reseptor yang digunakan memiliki nilai RMSD 0,743 Å. Hasil validasi tersebut menunjukkan bahwa protokol *docking* yang digunakan valid dan dapat digunakan untuk proses *docking* senyawa uji.

Mutagen dan karsinogen	+	+	-	71
Mutagen	+	-	-	-
Karsinogen	-	+	-	45
Toksik reproduksi	-	-	+	35
Tidak mutagen, karsinogen dan toksik reproduksi	-	-	-	17

Keterangan: toksik (+), tidaktoksik (-)

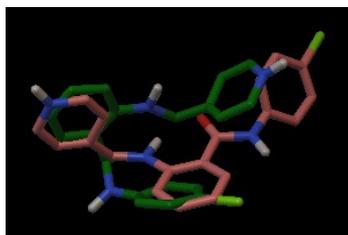


Fig 1. Hasil validasi sisi ikatan

Sebanyak 45 senyawa antioksidan alami yang diprediksi bersifat karsinogen dianalisis

interaksinya pada reseptor VEGF-1 melalui metode *molecular docking*. Hasil *docking* terhadap 45 senyawa antioksidan alami terlihat dalam hasil *docking* senyawa karsinogen pada tabel 3. Hasil *docking* tersebut menunjukkan bahwa senyawa yang memiliki energi bebas ikatan terendah terhadap reseptor VEGF-1 yaitu asam rosmarinik dan kapsaisin.

Tabel 3. Hasil *docking* senyawa karsinogen pada reseptor VEGF-1

No.	Senyawa	RMSD (Å)	Energi bebas ikatan (kcal/mol)	Ki
1	asam rosmarinat	34,343	-8,54	550,03 Nm
2	Kapsaisin	35,668	-8,11	1,14 µM
3	Gingerol	35,325	-7,02	7,17 µM
4	feruloil arabinosa	35,713	-6,69	12,47 µM
5	senyawa gingerol dan diaril heptanoid 3	35,739	-6,42	19,72 µM
6	Kapsaisinol	34,011	-6,11	33,02 µM
7	asam kaftarat	35,124	-5,99	40,51 µM
8	asam neoklorogenat	37,015	-5,94	44,04 µM
9	sinnamil asetat	37,710	-5,12	176,21 µM
10	asam sinamat	36,960	-4,25	762,98 µM
11	asam dihidroksisinamat	36,929	-4,18	863,98 µM
12	senyawa gingerol dan diaril heptanoid 4	35,390	-3,89	1,40 mM
13	1-propenil propil disulfida	36,943	-3,76	1,74 mM
14	Zingeron	37,235	-3,72	1,87 mM
15	asam dihidroksibenzoat	37,485	-3,64	2,13 mM
16	etil protokatekuat	37,649	-3,52	2,63 mM
17	asam klorogenat	36,689	-2,81	8,67 mM
18	1-O-b-D-glukopiranosil sinapat	35,984	-2,54	13,77 mM
19	asam p-hidroksi benzoat	37,723	-2,48	15,29 mM
20	asam 4-hidroksi benzoat	36,946	-2,28	21,20 mM
21	asam galat	36,870	-1,93	38,23 mM
22	asam kafeat	37,664	-1,88	42,05 mM
23	p-simen	37,418	-1,85	44,35 mM
24	asam siringat	37,122	-1,64	62,92 mM
25	asam vanilat	37,286	-0,28	625,80 mM
26	asam sinapat	36,932	0,71	-
27	Orizanol	37,081	1,64	-

28	scutellarein 7-O-glukoronida	35,341	2,20	-
29	asam ferulat	37,682	2,22	-
30	Eugenol	37,255	2,64	-
31	p-kumen-2,3-diol	37,253	8,37	-
32	malonil genistin	33,880	9,21	-
33	n-trans-feruloil piperidin	35,718	15,42	-
34	asam protokatekuat	37,061	15,79	-
35	malonil glisitn	33,616	23,36	-
36	malonil daidzin	33,959	35,78	-
37	Matairesinol	33,537	42,42	-
38	orizanol 3	35,236	67,32	-
39	orizanol 1	37,056	238,70	-
40	12-metoksikarnosat	36,513	390,39	-
41	asam karnosat	35,506	410,42	-
42	Karnosol	35,372	662,88	-
43	orizanol 5	36,580	779,17	-
44	senyawa gingerol dan diaril heptanoid 10	-	-	-
45	senyawa gingerol dan diaril heptanoid 6	-	-	-

Tabel 4. Hasil *docking* senyawa karsinogen dan pembanding pada reseptor VEGF-1

Senyawa	n-(4-klorofenil)-2- ((piridin-4-ilmetil) amino)benzamid	asam rosmarinat	kapsaisin	asam askorbat
Energi bebas ikatan (kcal/mol)	-11,63	-8,54	-8,11	-3,1
Ki	2,98 nM	550,03 nM	1,14 µM	5,30 mM
Residu	-	833LEU	-	-
	841VAL	841VAL	841VAL	-
	859ALA	859ALA	859ALA	-
	861LYS	-	-	861LYS
	-	878GLU	878GLU	878GLU
	882LEU	882LEU	882LEU	882LEU
	-	891VAL	891VAL	-
	892VAL	892VAL	892VAL	892VAL
	907VAL	-	-	-
	909VAL	909VAL	909VAL	-
	910GLU	910GLU	-	1029LEU
	912CYS	912CYS	912CYS	-
	1029LEU	1029LEU	1029LEU	-
	-	1038ILE	1038ILE	-
	1039CYS	1039CYS	1039CYS	1039CYS
	-	1040ASP	1040ASP	1040ASP
	1041PHE	1041PHE	1041PHE	1041PHE
Ikatan hidrogen	-	O-O 1038ILE	O-O 1038ILE	O-O 878GLU O-N 1039CYS

Hasil analisis *docking* senyawa karsinogen dan pembandingnya yaitu asam rosmarinat, kapsaisin, asam askorbat dan n-(4-klorofenil)-2-((piridin-4-ilmetil)amino) benzamid terhadap reseptor VEGF-1 terlihat pada tabel

4. Asam askorbat sebagai senyawa pembanding memberikan hasil energi bebas ikatan yang lebih besar sedangkan asam rosmarinat dan kapsaisin memberikan energi bebas ikatan yang lebih rendah. Semakin

rendah energi ikatan maka semakin stabil senyawa tersebut untuk dapat berikatan dengan reseptor (Pebriana dkk., 2008).

Hasil energi bebas ikatan asam rosmarinat, kapsaisin, asam askorbat menunjukkan hubungan yang sebanding dengan nilai LD₅₀ dari hasil prediksi toksisitas akut. Senyawa asam rosmarinat memiliki nilai LD₅₀ lebih rendah dibanding senyawa kapsaisin dan asam askorbat. Semakin rendah nilai LD₅₀ suatu senyawa maka semakin kecil konsentrasi yang dibutuhkan untuk dapat menyebabkan efek toksik.

Senyawa asam rosmarinat dan kapsaisin serta senyawa pembanding asam askorbat menunjukkan bahwa senyawa-senyawa tersebut dapat berinteraksi dengan reseptor VEGF-1. Interaksi tersebut terlihat dari adanya residu yang memiliki kemiripan dengan

senyawa pembanding n-(4-klorofenil)-2-((piridin-4-ilmetil)amino)benzamid. Residu tersebut antara lain 841VAL, 859ALA, 882LEU, 892VAL, 909VAL, 912CYS, 1029LEU, 1039CYS, dan 1041PHE. Pada senyawa asam rosmarinat dan kapsaisin memiliki ikatan hidrogen antara atom O pada gugus OH dengan atom O pada residu asam amino ILE (isoleusin) 1038 dengan jarak masing-masing 1,910 dan 1,837 Å. Asam askorbat memiliki ikatan hidrogen antara atom O pada gugus OH dengan atom O pada residu asam amino GLU (glutamat) 878 dengan jarak 2,075 Å dan antara atom O pada gugus OH dengan atom N pada residu asam amino CYS (sistein) 1039 dengan jarak 2,132 Å. Kemungkinan ikatan lain yang terjadi pada senyawa asam rosmarinat dan kapsaisin adalah ikatan hidrofob atau *Van Der Waals*.

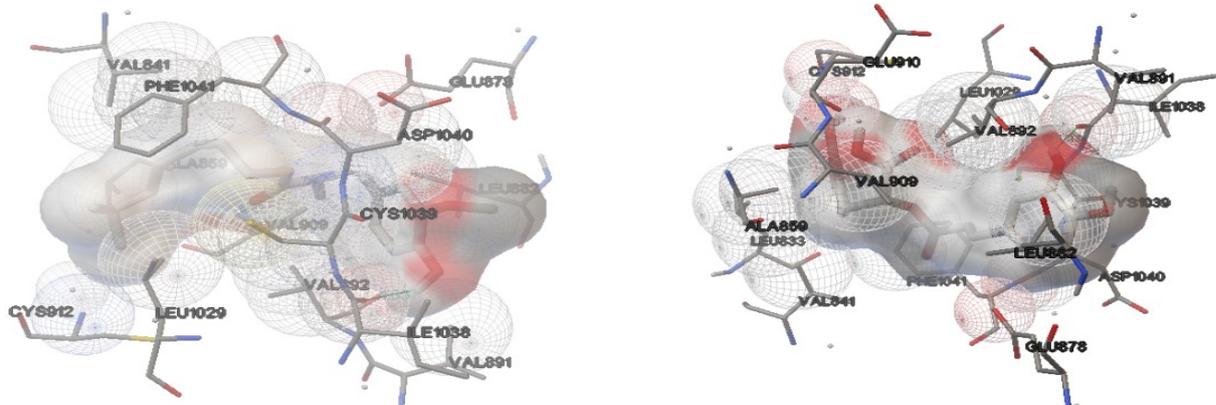


Fig 2. Hasil *docking* senyawa asam rosmarinat dan kapsaisin pada reseptor VEGF-1

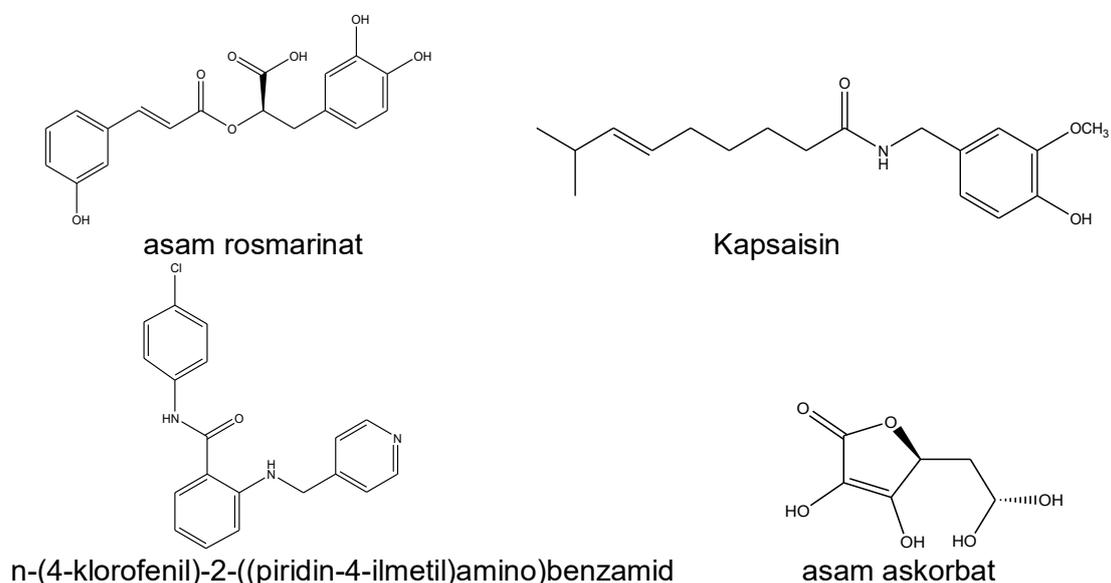


Fig 3. Struktur senyawa karsinogen dan ligan pembanding

Hubungan struktur dan aktivitas agonis kapsaisin terbagi menjadi tiga bagian yaitu cincin aromatik, ikatan amida dan rantai samping hidrofobik. Gugus OH dan substituen yang berada di posisi 3 dan 4 yang berada pada cincin aromatik memiliki aktivitas agonis yang kuat. Rantai samping hidrofobik memperkuat aktivitas agonis terutama pada panjang rantai samping dengan jumlah karbon sebanyak 8 atau 9 (Escogido dkk., 2011).

Hasil prediksi toksisitas kronik asam rosmarinat dan kapsaisin dinyatakan dalam nilai NOEL (*No Observable Effect Level*) dan ADI (*Acceptable Daily Intake*). Nilai NOEL asam rosmarinat yaitu sebesar 907 mg/kg/hari dan kapsaisin sebesar 998 mg/kg/hari. Nilai ADI diperoleh dari pembagian nilai NOEL dengan faktor keamanan sebesar 100. Nilai ADI asam rosmarinat yaitu sebesar 9,07 mg/kg/hari dan kapsaisin sebesar 9,98 mg/kg/hari. Sehingga dengan konsentrasi tersebut senyawa asam rosmarinat dan kapsaisin dapat diberikan setiap hari seumur hidup dan diperkirakan tidak akan menimbulkan efek buruk pada manusia.

KESIMPULAN

Senyawa antioksidan alami yang berasal dari tumbuhan diprediksi memiliki sifat toksik mutagen, karsinogen, toksik terhadap sistem reproduksi, toksisitas akut dan kronis. Pengujian toksisitas 300 senyawa antioksidan alami menghasilkan prediksi toksisitas sebanyak 45 senyawa bersifat karsinogen. Walaupun diprediksi bersifat toksik, senyawa antioksidan alami masih dapat digunakan berdasarkan pada hasil prediksi nilai LD₅₀, NOEL, dan ADI. Hasil analisis interaksi antara senyawa toksik dengan reseptor menunjukkan adanya hubungan yang sinergis antara energi bebas ikatan dengan nilai LD₅₀ senyawa.

DAFTAR PUSTAKA

Abdelrahim, Baker, M., Cheryl H., Abbruzzese, J. L., Sheikh-Hamad, D., Liu, S.,

Kyungsil, Y., Safe, S. 2007. Regulation of Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-1 Expression by Specificity Proteins 1, 3, and 4 in Pancreatic Cancer Cells, *Cancer Res*, 67, 3286-3294.

Deshpande, S.S. 2002 *Handbook of Toxicology*, Marcel Dekker Inc., USA, 131.

El-Samragy, Y. 2012. *Food Additive*, InTech Publisher, Croatia, 4-5.

Escogido, M. L. R., Edith G. Gonzalez-Mondragon, E. G. G., Tzompantzi, E. V. 2011. Chemical and Pharmacological Aspects of Capsaicin, *Molecules*, 16, 1253-1270.

Ito, N., Hagiwara, A., Shibata, M., Ogiso, T., Fukushima, S. 1982. Induction of Squamous Cell Carcinoma in the Forestomach of F344 Rats Treated with BHA, *Gann*, 73, 332-334.

Kontoyianni, M., McClellan, Sokol. 2004. Evaluation of Docking Performance : Comparative Data on Docking Algorithm, *Journal of Medicinal Chemistry*, 47, 558-565.

Lu, F.C., Kacew, S. 2009. *Lu's Basic Toxicology: Fundamentals, Target Organs, and Risk Assesment*, Fifth edition, Informa Healthcare, USA, 89-90.

OECD. 2001. *OECD Guideline for Testing of Chemicals, Acute Oral Toxicity – Acute Toxic Class Method*, ENV/JM/MONO(2001)4.

Pebriana, R. B., Romadhon, A. F., Yuniarto, A., Rokhman, M. R., Fitriyah, N. Q., Jenie, R. I., Meiyanto, E. 2008. *Docking* Kurkumin dan Senyawa Analognya pada Reseptor Progesteron: Studi Interaksinya sebagai *Selective Progesterone Receptor Modulators (SPRMS)*, *Pharmacol*, 9, 14-20.

- Pokorny, J., Yanishlieva, N., Gordon, M. 2001. *Antioxidants in food: Practical applications*, Woodhead Publishing Ltd., Cambridge England, 42-49, 154, 160-161.
- Reisfeld, B., Mayeno, A. N. 2012. *Computational Toxicology*, Volume I, Humana Press, USA, 4.
- Shah, M. A., Bosco, S. J. D., Mir, S. A. 2014. Review Plant extracts as natural antioxidants in meat and meat products, *Meat Science*, 98, 21–33.
- Shahidi, F., Wanasundara, P.D. 1992. Phenolic antioxidants, *Critical Reviews in Food Sciences and Nutrition*, 32, 67-103.
- Siegel, R., Naishadham, D., Jemal, A. 2013. Cancer Statistics, *CA Cancer J Clin*, 63, 11–30.
- Valerio, L. G. 2009. *In Silico Toxicology for The Pharmaceutical Sciences*, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 241, 356–370.
- Worth, A., Fuart-Gatnik, M., Lapenna, S., Piparo, E. L., Mostrag-Szlichtyng, A., Serafimova, R. 2011. The Use of Computational Methods in the Toxicological Assessment of Chemicals in Food: Current Status and Future Prospects, *JRC Scientific and Technical Reports*, EUR 24748 EN.
- Xu, C., Cheng, F., Chen, L., Du, Z., Li, W., Liu, G., Lee, P. W., Tang, Y. 2012. In silico Prediction of Chemical Ames Mutagenicity, *J. Chem. Inf. Model*, 52, 2840–2847.