



## Studi *In Silico* Aktivitas Senyawa Steroid Terhadap Antikanker Payudara Menggunakan Estrogen Alfa (ER- $\alpha$ )

Nurlelasari Nurlelasari<sup>a\*</sup>, Almas Widyana<sup>a</sup>, Euis Julaeha<sup>a</sup>, Ari Hardianto<sup>c</sup>, Desi Harneti Putri Huspa<sup>a</sup>, Rani Maharani<sup>a,b</sup>, Tri Mayanti<sup>a</sup>, Darwati Darwati<sup>a</sup>, Muhammad Hanafi<sup>d</sup>, Unang Supratman<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup>Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam dan Sintesis, Departemen Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Padjadjaran

<sup>b</sup>Laboratorium Sentral, Universitas Padjadjaran

<sup>c</sup>Laboratorium Kimia Analitik dan Pemisahan, FMIPA Universitas Padjadjaran

Jalan Raya Jatinangor, Sumedang, Jawa Barat 45363 Indonesia

<sup>d</sup>Pusat Riset Kimia BRIN

Gd. 452 Bldg, Jalan Puspitek Serpong Gate, Muncul, Serpong, Tangerang Selatan, Banten 15314 Indonesia

\*Corresponding author: [nurlelasari@unpad.ac.id](mailto:nurlelasari@unpad.ac.id)

DOI: 10.20961/alchemy.19.1.62384.44-52

Received 22 June 2022, Accepted 20 December 2022, Published 22 March 2023

### Kata kunci:

estrogen reseptor alfa;  
kanker payudara;  
penambatan molekul;  
steroid.

**ABSTRAK.** Kanker payudara merupakan penyebab kedua terbanyak kematian pada wanita akibat kanker setelah kanker paru-paru di seluruh dunia. Steroid merupakan kelompok senyawa aktif yang diantaranya berhasil diisolasi dari genus *Chisocheton* yang dilaporkan memiliki aktivitas melawan sel kanker payudara MCF-7. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui interaksi senyawa steroid terhadap estrogen alfa (ER- $\alpha$ ) melalui metode *in silico*, yaitu penambatan molekul. Pemodelan struktur tiga dimensi (3D) senyawa steroid dilakukan dengan memperhatikan keadaan terprotonasinya pada pH 7,4. Metode *in silico* divalidasi melalui penambatan ulang struktur kristal ER- $\alpha$ , hingga diperoleh nilai RMSD < 2 Å, dengan program AutoDock 4.2.6. Dengan program yang sama, senyawa-senyawa steroid ditapis dengan metode penambatan molekul. Hasil penapisan menghasilkan nilai energi bebas dari kedua senyawa steroid yaitu -10,08 kkal/mol (7 $\alpha$ -hidroksi- $\beta$ -sitosterol) dan -10,75 kkal/mol (stigmast-5-en-3 $\beta$ -ol), yang nilainya lebih baik dari estradiol (-9,62 kkal/mol), sebagai ligan alami ER- $\alpha$ . Kedua senyawa ini berpotensi untuk menghambat estrogen alfa, dimana senyawa stigmast-5-en-3 $\beta$ -ol memiliki potensi yang lebih besar karena nilai energi bebasnya lebih rendah. Hal ini menandakan bahwa modifikasi struktur senyawa mampu mengubah nilai energi ikatan dan interaksi antara ligan dan reseptor.

### Keywords:

alpha estrogen receptor;  
breast cancer;  
molecular docking;  
steroid.

**ABSTRACT.** In *Silico* Study of Steroid Compound Activity Against Breast Cancer Using Estrogen Alpha (ER- $\alpha$ ). Breast cancer is the second worldwide leading cause of cancer death in women after lung cancer. Steroids are a group of active compounds isolated from the *Chisocheton* genus that has activity against MCF-7 breast cancer cells. This study aimed to determine the interaction activity of steroid compounds against alpha estrogen receptor (ER- $\alpha$ ) through *in silico* method specifically molecular docking. The modeling of the three-dimensional structure (3D) of steroid compounds was performed by considering their protonation states at pH 7.4. The *in silico* method was validated by redocking the crystal structure of ER- $\alpha$  until obtaining an RMSD value < 2 Å, using the AutoDock 4.2.6 program. Steroids compounds were screened with the same program namely the molecular docking method. Screening results show that the free energy values of the steroid compounds were -10.08 kcal/mol (7 $\alpha$ -hydroxy- $\beta$ -sitosterol) and -10.75 kcal/mol (stigmast-5-en-3 $\beta$ -ol), which are stronger than estradiol (-9.62 kcal/mol) as native ligand of ER- $\alpha$ . Both of these compounds can inhibit the alpha estrogen receptor, in which the stigmast-5-en-3 $\beta$ -ol compound has a greater potential because of its lower free energy value. This finding indicates that modification of the compound's structure could change the binding energy value and interaction between ligands and receptors.

## PENDAHULUAN

Kanker payudara adalah penyakit dengan prevalensi tinggi di dunia. Sekitar 13% wanita di dunia mengidap kanker payudara (Chopra and Davies, 2020). Penyakit ini terdiri dari beberapa sub tipe dengan kriteria yang berbeda, seperti tipe patologi, ukuran, nodus limfa, dan sub tipe molekular (Fragomeni *et al.*, 2018). Sekitar 70% kanker payudara mengekspresikan secara berlebihan estrogen reseptor (ER). ER digunakan untuk menentukan sensitivitas kanker payudara terhadap terapi anti-estrogen dan untuk menilai sensitivitas kemoterapi preventif pada pasien yang memiliki resiko tinggi kanker payudara (Sari *et al.*, 2018). ER memiliki dua tipe yaitu ER- $\alpha$  dan ER- $\beta$ . ER- $\alpha$  adalah reseptor yang umumnya dilaporkan menyebabkan peningkatan proliferasi sel, sedangkan ER- $\beta$

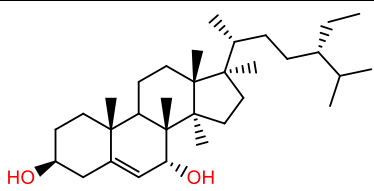
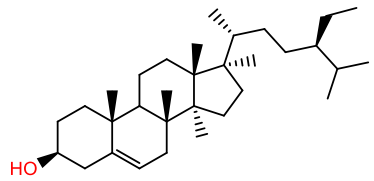
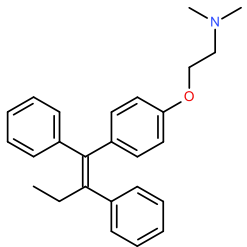
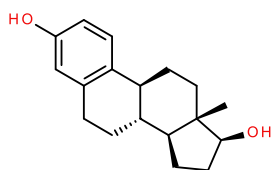
dikaitkan dengan proses prognosis (Hakim *et al.*, 2018). Dengan demikian, ER- $\alpha$  merupakan target yang potensial dalam penemuan dan pengembangan obat kanker payudara (Niinivehmas *et al.*, 2016).

Tanaman merupakan alternatif umum untuk pengobatan suatu penyakit kanker (Mitra and Dash, 2018). Lebih dari 3000 tanaman di seluruh dunia telah dilaporkan aktivitas sitotoksiknya, termasuk antikanker (Tariq *et al.*, 2017; Seca and Pinto, 2018). Sebagai contoh, senyawa steroid 7 $\alpha$ -hidroksi- $\beta$ -sitosterol telah berhasil diisolasi dari kulit batang *Chisocheton tomentosus* dengan IC<sub>50</sub> 16,0  $\pm$  3,6  $\mu$ M terhadap sel kanker payudara MCF-7 dan IC<sub>50</sub> 25,0  $\pm$  3,3  $\mu$ M terhadap sel HepG2 (Tasyriq *et al.*, 2012; Katja *et al.*, 2021). Selain itu, stigmast-5-en-3 $\beta$ -ol yang diisolasi dari kulit batang *C. cumingianus* memiliki IC<sub>50</sub> 60,8 100  $\mu$ M sel murin leukemia (Katja *et al.*, 2016; Sari *et al.*, 2020). Sementara itu, Fernando *et al.* (2018) melaporkan bahwa stigmast-5-en-3 $\beta$ -ol dari ekstrak etanol *Dendronephthya gigantea* memiliki aktivitas terhadap sel MCF-7 dengan IC<sub>50</sub> 45,17  $\mu$ g/ml (Fernando *et al.*, 2018). Namun, belum ada kajian yang dilaporkan mengenai aktivitas sitotoksik kedua senyawa dan kaitannya dengan ER- $\alpha$ .

Pendekatan *in silico* telah digunakan dalam penapisan kandidat obat dari senyawa bahan alam (Hardianto *et al.*, 2019; Yusuf *et al.*, 2019; Hardianto *et al.*, 2021). Di samping itu, metode *in silico* juga dapat digunakan untuk menjelaskan penghambatan suatu senyawa bahan alam terhadap protein target (Hardianto *et al.*, 2019; Patel *et al.*, 2017). Maka, pada penelitian ini, metode *in silico* penambatan molekul digunakan untuk menjelaskan aktivitas sitotoksik steroid 7 $\alpha$ -hidroksi- $\beta$ -sitosterol dan stigmast-5-en-3 $\beta$ -ol terhadap sel kanker payudara dan kaitannya dengan ER- $\alpha$ . Selain itu, Lipinski's rule of five (Ro5) juga akan digunakan untuk memprediksi potensi kedua steroid sebagai obat yang secara oral. Kajian ini merupakan studi awal mengenai potensi kedua senyawa steroid tersebut dalam pengembangan kandidat agen pengobatan kanker payudara.

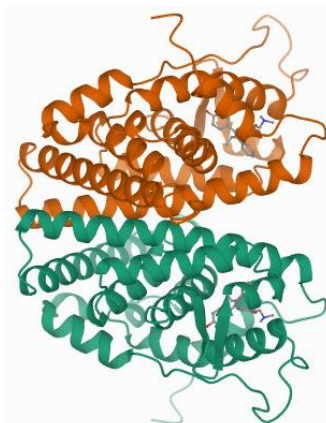
## METODE PENELITIAN

**Tabel 1.** Struktur senyawa steroid dan seyawa pembanding. Senyawa pembanding yang digunakan adalah tamoksifen dan estradiol.

Senyawa	Struktur
Steroid (1) 7 $\alpha$ -hidroksi- $\beta$ -sitosterol (Sulasikin, 2020)	
Steroid (2) Stigmast-5-en-3 $\beta$ -ol (Sikumbang, 2020)	
Tamoksifen	
Estradiol	

Bahan yang digunakan meliputi senyawa steroid hasil isolasi dari *C. macrophyllus* dan *C. lasiocarpus* (Tabel 1) yang telah dimodelkan menggunakan perangkat lunak MarvinSketch 18.21.0 (ChemAxon, 2020). dalam dua dimensi (2D) dan dilakukan perubahan menjadi struktur tiga dimensi (3D) menggunakan perangkat lunak Biovia

Discovery Studio (Biovia, 2020). Bahan lainnya yaitu struktur 3D ER- $\alpha$  (Gambar 1) yang diunduh dari *Protein Data Bank* (PDB) (Burley *et al.*, 2021), <https://www.rcsb.org/structure/3ERT> dengan kode 3ERT. Struktur kristal dengan kode 3ERT adalah ER- $\alpha$  yang mengikat tamoksifen (Xue *et al.*, 2019).



**Gambar 1.** Struktur 3D protein ER- $\alpha$ . Struktur ini memiliki kode PDB 3ERT yang dapat diunduh melalui <https://www.rcsb.org/structure/3ERT>.

### Pemodelan Struktur Dua dan Tiga Dimensi Senyawa Steroid

Struktur dua dimensi (2D) steroid 7 $\alpha$ -hidroksi- $\beta$ -sitosterol (**1**) dan stigmast-5-en-3 $\beta$ -ol (**2**) digambar dengan bantuan program MarvinSketch 18.21.0. Kedua struktur 2D lalu diubah menjadi tiga dimensi (3D) dengan program Biovia Discovery Studio Visualizer 21.1.0.20298. Keadaan terprotonasi kedua struktur 3D disesuaikan dengan yang diprediksi program MarvinSketch 18.21.0.

### Lipinski's Rule of Five

Senyawa steroid **1** dan **2** diases dengan *Lipinski's rule of five* (Ro5) (Yang *et al.*, 2019; Lipinski *et al.*, 2012; Chen *et al.*, 2020) dengan *webservice* SwissADME (<http://www.swissadme.ch/>) (Daina *et al.*, 2017). Tahapan ini digunakan untuk menilai potensi kedua senyawa sebagai kandidat obat oral aktif. Ro5 mengevaluasi bobot molekul, logP, donor dan akseptor ikatan hidrogen (Nishinarizki *et al.*, 2022).

### Penambatan Molekul

Validasi perlu dilakukan sebelum menambatkan molekul steroid ke struktur ER- $\alpha$ . Pertama-tama, struktur kristal ER- $\alpha$  yang berkompleks dengan tamoksifen diunduh dari *Protein Data Bank* (PDB) (<https://www.rcsb.org>) (Burley *et al.*, 2021) dengan kode PDB 3ERT. Struktur ER- $\alpha$  dan ligan tamoksifen dipisahkan dengan program Biovia Discovery Studio 2020 Client. Keduanya disimpan terpisah sebagai berkas berformat pdb. Dalam program AutoDockTools 1.5.6, atom hidrogen nonpolar dihilangkan dari kedua struktur. Selain itu, muatan atom Gasteiger dan Kollman masing-masing ditambahkan ke struktur ligan tamoksifen dan ER- $\alpha$ . Selanjutnya, kedua struktur disimpan sebagai disimpan dalam format pdbqt. Ukuran *grid box* diatur menjadi 40  $\times$  40  $\times$  40 titik dengan jarak antar *grid* 0,375 Å, dengan titik pusatnya mengacu pada struktur tamoksifen. *Lamarckian Genetic Algorithm* (LGA) dipilih dalam penambatan molekul, dengan jumlah GA 100 kali dan evaluasi 2.500.000. Penambatan ulang molekul tamoksifen ke ER didahului dengan perhitungan grid reseptor dengan program AutoGrid4.2 (Forli *et al.*, 2016). Selanjutnya, penambatan ulang dilakukan dengan program Autodock4.2 (Forli *et al.*, 2016). Validasi dinilai berhasil jika *Root Mean Square Deviation* (RMSD) kurang dari 2,00 Å (Hardianto *et al.*, 2021).

Struktur 3D steroid disiapkan seperti pada proses validasi dengan program AutoDockTools 1.5.6 (Forli *et al.*, 2016). Ukuran grid pada tahap validasi digunakan dalam perhitungan grid map senyawa **1** dan **2** dengan AutoGrid4.2. Parameter penambatan molekul pada tahap validasi juga digunakan untuk senyawa steroid. Penambatan senyawa **1** dan **2** dilakukan dengan program AutoDock4.2.

### Analisis Data

Hasil penambatan molekul dianalisis dengan AutoDockTools 1.5.6, Interaksi antara ligan dan reseptor dianalisis dan divisualisasi dengan program Biovia Discovery Studio 2020 Client.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### *Lipinski's Rule of Five*

Berdasarkan Ro5 (*Lipinski's rule of five*), senyawa obat harus memiliki bobot molekul (BM) kurang dari 500 g/mol, logP kurang dari 5, dan akseptor (HBA) dan donor ikatan hidrogen (HBD) masing-masing kurang dari 10 dan 5. Senyawa harus memenuhi setidaknya tiga aturan sebagai persyaratan minimum kandidat senyawa obat oral (Lipinski *et al.*, 2012; Chen *et al.*, 2020; Raj, 2021). Hasil analisis Ro5 tersaji pada Tabel 2, kontrol tamoksifen dan estradiol memenuhi semua kriteria Ro5, sedangkan senyawa steroid **1** dan **2** melanggar satu aturan. Aturan yang terlanggar adalah nilai logP lebih dari 5, yaitu 6,69 untuk steroid **1** dan 7,84 untuk steroid **2**.

**Tabel 2.** Hasil senyawa yang mengikuti Ro5.

Senyawa	BM (g/mol)	LogP	HBA	HBD	Pelanggaran Ro5
Tamoksifen	387,51	4,49	3	1	0
Estradiol	272,38	3,53	2	2	0
7 $\alpha$ -hidroksi- $\beta$ -sitosterol ( <b>1</b> )	430,71	6,69	2	4	1
stigmast-5-en-3 $\beta$ -ol ( <b>2</b> )	414,71	7,84	1	2	1

Keterangan:

BM = berat molekul.

LogP = koefisien partisi *octanol-water*.

HBA = *hydrogen-bond acceptor*.

HBD = *hydrogen-bond donor*.

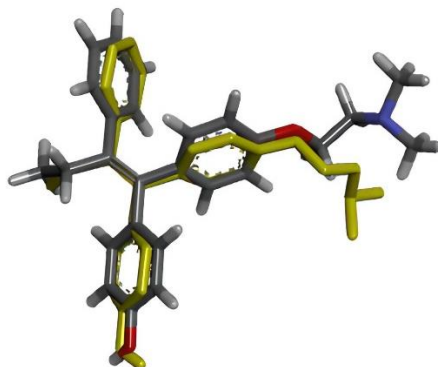
Kriteria logP mencerminkan kelarutan senyawa dalam air (Raj, 2021). Semakin rendah nilai logP suatu senyawa, semakin tinggi kelarutannya dalam air dan hal yang sebaliknya berlaku. Maka, terlanggarnya kriteria logP menunjukkan bahwa senyawa steroid **1** dan **2** memiliki kelarutan yang kurang baik dalam air. Hal ini tidak mengherankan. Struktur kedua steroid tersebut didominasi oleh karbon alisiklik yang bersifat hidrofobik. Steroid **1** hanya memiliki satu gugus hidroksil, sedangkan steroid **2** dua gugus hidroksil, sehingga steroid **2** kelarutannya dalam air relatif lebih baik dari steroid **1**. Meskipun demikian, steroid **1** dan **2** masih memenuhi kriteria minimum Ro5, dengan memenuhi tiga aturan yang lain, sehingga keduanya kemungkinan dapat diserap dengan baik di usus halus.

### Penambatan Molekul

**Tabel 3.** Hasil penambatan ulang ligan tamoksifen terhadap protein ER- $\alpha$  dengan program AutoDock 4.2. Struktur kristal yang digunakan adalah 3ERT.

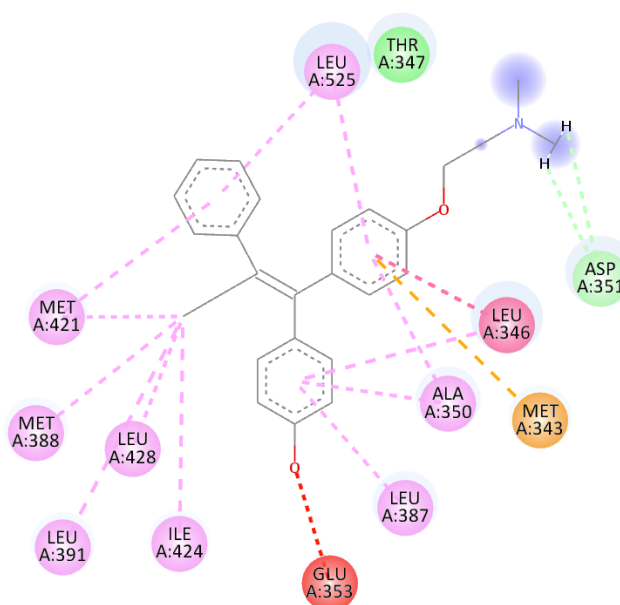
Rank	Sub-Rank	Run	Energi Ikat / kkal/mol	RMSD / Å
1	1	70	-11,50	1,16
1	2	35	-11,49	1,00
1	3	97	-11,45	1,20
1	4	43	-11,45	1,00
1	5	56	-11,44	1,06
1	6	84	-11,44	1,17
1	7	78	-11,42	1,14
1	8	28	-11,41	0,96
2	1	82	-10,38	3,24
2	2	57	-11,28	3,30

Penambatan molekul divalidasi dengan menambatkan ulang molekul tamoksifen ke ER- $\alpha$ , yang struktur keduanya tersedia di *Protein Data Bank* (<https://www.rcsb.org>) dengan kode 3ERT. Selanjutnya, nilai RMSD (*Root Mean Square Deviation*) digunakan untuk mengukur kemiripan koordinat (pose). Nilai RMSD yang dihasilkan dari penambatan ulang tamoksifen pada penelitian ini sebesar 1,16 Å (Tabel 3, Gambar 2). Hal ini menunjukkan bahwa penambatan molekul dapat diterapkan pada sampel karena hasil validasi penambatan berada di bawah 2,00 Å. Pose tamoksifen hasil penambatan ulang, dengan nilai RMSD 1,16 Å, memiliki skor energi ikat ( $\Delta G$ ) -11,50 kkal/mol. Energi ikat ini bersumber dari berbagai interaksi intermolekul antara tamoxifen dan residu-residu pada sisi aktif ER- $\alpha$ , seperti interaksi hidrofobik dan ikatan hidrogen (Gambar 3, Tabel 4).



**Gambar 2.** Hasil validasi ligan tamoksifen sebelum (abu-abu) dan setelah penambatan ulang (kuning).

Hasil penambatan molekul senyawa steroid uji menunjukkan bahwa keduanya memiliki afinitas yang lebih lemah dibandingkan tamoksifen. Namun, kedua senyawa tersebut lebih kuat dibandingkan dengan estradiol, yang merupakan ligan alami ER- $\alpha$  (Paech *et al.*, 1997) (Tabel 4). Senyawa steroid **2** memiliki nilai afinitas sebesar -10,75 kkal/mol, sedangkan senyawa steroid **1** -10,08 kkal/mol (Tabel 4). Dengan demikian, kedua senyawa steroid berpotensi menghambat ER- $\alpha$ .



**Gambar 3.** Interaksi tamoksifen dengan protein ER- $\alpha$ . Warna merah muda menunjukkan reaksi hidrofobik, sedangkan warna hijau muda ikatan hidrogen non-konvensional, oranye interaksi  $\pi$ -sulfur, dan merah interaksi yang tidak disukai.

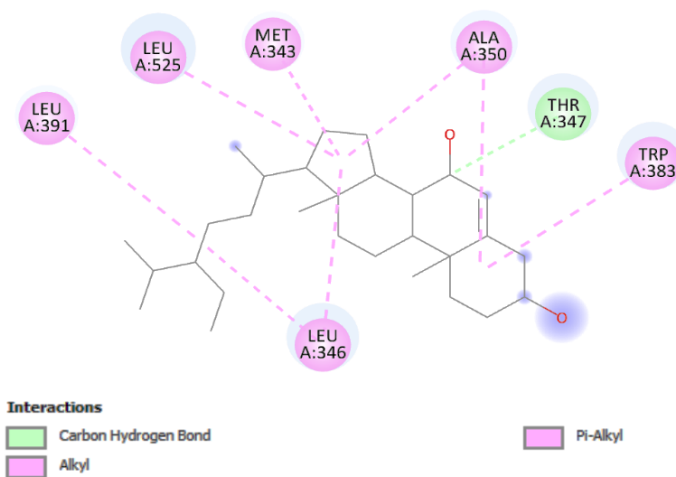
**Tabel 4.** Hasil penambatan molekular senyawa uji.

Senyawa	$\Delta G$ / (kkal/mol)	Parameter	
		Ikatan Hidrogen	Ikatan Hidrofobik
Tamoksifen	-11,50	GLU353, THR347, ASP351	MET421, MET388, LEU346, LEU525, LEU387, LEU391, ALA358, TRP383
Estradiol	-9,63	HIS524, GLU353, ARG394	LEU346, ALA350, LEU384, PHE404, MET421, ILE424, LEU525
Steroid <b>1</b>	-10,08	THR347	LEU391, LEU525, MET343, LEU346, ALA358, TRP383
Steroid <b>2</b>	-10,75		LEU387, LEU391, LEU346, MET343, ALA358, LEU525

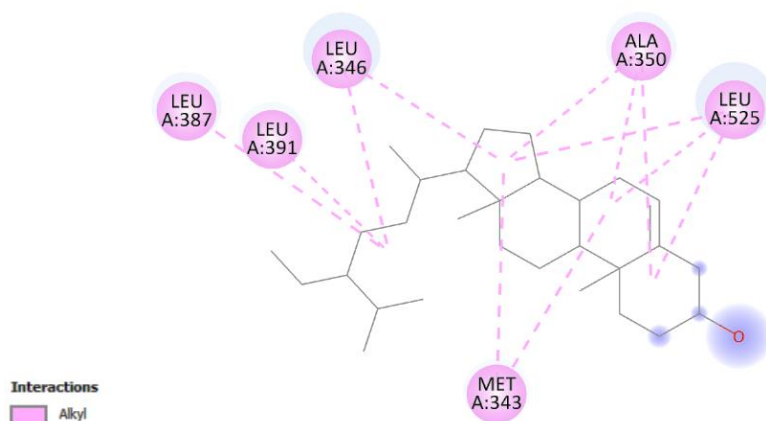
Berdasarkan [Tabel 5](#), kontribusi pengikatan steroid **1** dan **2** berasal dari jenis energi Van der Waals (vdw), ikatan hidrogen, dan desolvasi. Namun, kedua steroid hanya berikatan dengan ER- $\alpha$  melalui interaksi hidrofobik ([Tabel 4](#), [Gambar 4a](#) dan [4b](#)), kecuali steroid **1** yang membentuk ikatan non konvensional hidrogen ([Gambar 4a](#)). Oleh karena itu, interaksi hidrofobik memberikan kontribusi yang besar terhadap pengikatan kedua steroid ke ER- $\alpha$ .

**Tabel 5.** Energi yang dihasilkan pada proses penambatan molekul.

Jenis Energi	Steroid 1	Steroid 2	Estradiol
Energi total intermolecular (kcal/mol)	-11,87	-12,54	-10,42
Energi vdw + ikatan H + desolvasi (kcal/mol)	-11,82	-12,53	-10,19
Energi elektrosatik (kcal/mol)	-0,05	-0,01	-0,24
Energi total internal (kcal/mol)	-1,14	-1,55	0,05
Energi bebas torsi (kcal/mol)	1,79	1,79	0,6
Energi sistem tak terikat (kcal/mol)	-1,14	-1,55	0,05
Energi bebas ikatan ( $\Delta G$ ) (kcal/mol)	<b>-10,08</b>	<b>-10,75</b>	<b>-9,83</b>



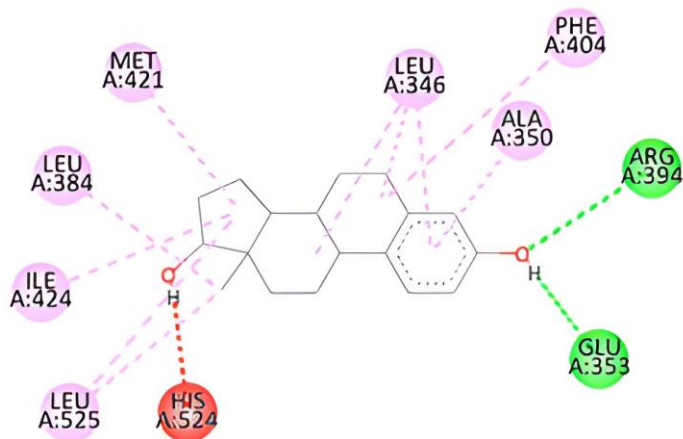
(a)



(b)

**Gambar 4.** (a) Interaksi senyawa steroid **1** dengan protein ER- $\alpha$ . Warna merah muda menunjukkan reaksi hidrofobik, sedangkan warna hijau muda adalah ikatan hidrogen non-konvensional, (b) Interaksi antara senyawa steroid **2** dengan ER- $\alpha$ . Warna merah muda menunjukkan reaksi hidrofobik.

Sementara itu, meskipun estradiol membentuk dua ikatan hidrogen dengan GLU353 dan ARG394 di sisi aktif ER- $\alpha$ , senyawa ini memiliki kontribusi energi vdw, ikatan hidrogen, dan desolvasi yang lebih rendah dari senyawa steroid **1** dan **2**. Analisis interaksi ([Gambar 5](#)) menunjukkan bahwa estradiol membentuk ikatan yang tidak disukai dengan HIS524 sehingga menurunkan energi interaksi antara estradiol dan ER- $\alpha$ .



**Gambar 5.** Interaksi estradiol dengan ER- $\alpha$ . Warna merah muda menunjukkan reaksi hidrofobik, sedangkan warna hijau ikatan hidrogen konvensional, dan merah interaksi yang tidak disukai.

## KESIMPULAN

Dalam penelitian ini, studi *in silico* dengan prediksi *Lipinski's rule of five* (Ro5) dan penambatan molekul telah dilakukan untuk memperelajari potensi penghambatan senyawa **1** dan **2** terhadap ER- $\alpha$ , yang berperan dalam perkembangan sel kanker payudara. Hasil Ro5 menunjukkan bahwa senyawa **1** dan **2** berpotensi aktif sebagai obat oral yang aktif. Sementara itu, hasil penambatan molekul menunjukkan bahwa senyawa **1** dan **2** berpotensi sebagai inhibitor ER- $\alpha$  karena memiliki energi pengikatan yang lebih kuat dibandingkan estradiol, yaitu berturut-turut -10,75 dan -10,08 kkal/mol. Dengan demikian, senyawa **1** dan **2** berpotensi sebagai kandidat antikanker payudara.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada Universitas Padjajaran melalui DRPM atas hibah RKDU Kontrak 2202/UNG.3.1/PM.00/2022 (Nurlelarsi) atas bantuan dana yang diberikan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Biovia and Dassault Systèmes. 2020. Discovery Studio Visualizer, 21.1.0.20298, San Diego: Dassault Systèmes, <https://discover.3ds.com/discovery-studio-visualizer-download>.
- Burley, S.K., Bhikadiya, C., Bi, C., Bittrich, S., Chen, L., Crichlow, G.V., Christie, C.H., Dalenberg, K., Costanzo, L.D., Duarte, J.M., Dutta, S., Feng, Z., Ganesan, S., Goodsell, D.S., Ghosh, S., Green, R.K., Guranović, V., Guzenko, D., Hudson, B.P., Lawson, C.L., Liang, Y., Lowe, R., Namkoong, H., Peisach, E., Persikova, I., Randle, C., Rose, A., Rose, Y., Sali, A., Segura, J., Sekharan, M., Shao, C., Tao, Y., Voigt, M., Westbrook, J.D., Young, J.Y., Zardecki, C., and Zhuravleva, M. 2021. RCSB Protein Data Bank: powerful new tools for exploring 3D structures of biological macromolecules for basic and applied research and education in fundamental biology, biomedicine, biotechnology, bioengineering and energy sciences, *Nucleic Acids Research*, 49(D1), D437–D451. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa1038>.
- ChemAxon, (2020). MarvinSketch 18.21.0. <https://www.chemaxon.com>.
- Chen, X., Li, H., Tian, L., Li, Q., Luo, J., and Zhang, Y. 2020. Analysis of the Physicochemical Properties of Acaricides Based on Lipinski's Rule of Five. *Journal of Computational Biology*, 1–10. <https://doi.org/10.1089/cmb.2019.0323>.
- Chopra S., and Davies, E.L. 2020. Breast cancer. *Med (United Kingdom)*. 48(2), 113-118. <https://doi.org/10.1016/j.mpmed.2019.11.009>.
- Daina, A., Michielin, O., and Zoete, V. 2017. SwissADME: A Free Web Tool to Evaluate Pharmacokinetics, Drug-Likeness and Medicinal Chemistry Friendliness of Small Molecules. *Scientific Reports*, 7(1), 42717. <https://doi.org/10.1038/srep42717>.
- Fragomeni, S.M., Sciallis, A., and Jeruss, J.S. 2018. Molecular Subtypes and Local-Regional Control of Breast Cancer. *Surgical Oncology Clinics*. 27(1), 95-120. <https://doi.org/10.1016/j.soc.2017.08.005>.
- Fernando, L.P.S., Sanjeewa K.K.A., Ann Y-S., Ko C., Lee S-H., Lee W.W., and Jeon Y-J. 2018. Apoptotic and Antiproliferative Effects of Stigmast-5-En-3 $\beta$ -Ol from *Dendronephthya Gigantea* on Human Leukimia HL-60 and Human Breast Cancer MCF-7 Celss. *Toxicology in Vitro*, 52(2018), 297-305. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2018.07.007>.

- Forli, S., Huey, R., Pique, M. E., Sanner, M. F., Goodsell, D. S., and Olson, A. J. 2016. Computational Protein-Ligand Docking and Virtual Drug Screening With The Autodock Suite. *Nature Protocols*, 11(5), 905-919. <https://doi.org/10.1038/nprot.2016.051>.
- Hakim, A., Widyanti, S., and Alfianto, U. 2018. Hubungan antara Obesitas dengan Reseptor Hormonal (Estrogen reseptor dan Progesteron) dan Ekspresi HER-2/NEU pada Pasien Kanker Payudara Di RS X Surakarta. *Biomedika*, 10(1), 30-34. <https://doi.org/10.23917/biomedika.v10i1.5851>.
- Hardianto, A., Yusuf, M., Liu, F., and Ranganathan, S. 2019. Structure-Based Drug Design Workflow. Dalam Ranganathan, S., Nakai, K., Scönbach C., and Gribskov, M. *Encyclopedia of Bioinformatics and Computational Biology*, 3, 273–282. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809633-8.20104-0>.
- Hardianto, A., Yusuf, M., Hidayat, I. W., Ishmayana, S., and Soedjanaatmadja, U. M. S. 2021. Exploring the Potency of Nigella sativa Seed in Inhibiting SARS-CoV-2 Main Protease Using Molecular Docking and Molecular Dynamics Simulations. *Indonesian Journal of Chemistry*, 21(5), 1252-1262. <https://doi.org/10.22146/ijc.65951>.
- Katja, D.G., Farabi, K., Nuraini, V.A., Nurlelasari, N., Hidayat, A.T., Mayanti, T., Harneti, D., and Supratman, U. 2016. A new 30-nor Trijugintype Limonoid, Chisotrijugin, from the bark of *Chisocheton cumingianus* (Meliaceae). *International Journal of Chemistry*, 8(3), 30-34. <https://doi.org/10.5539/ijc.v8n3p30>.
- Katja, D.G., Mantiri, S.A., Runtuwene, M.R.J., Supratman, U., and Hilmayanti, E. 2021. Senyawa Katekin (Flavonoid) dari Kulit Batang *Chisocheton balancae* C.DC (Meliaceae). *Jurnal Ilmiah Sains*, 21(2), 161-165. <https://doi.org/10.35799/jis.v21i2.35777>.
- Lipinski, CA., Lombardo F., Dominy BW., and Feeney PJ. 2012. Experimental and Computational Approaches to Estimate Solubility and Permeability In Drug Discovery And Development Settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 46(1-3), 3-26. [https://doi.org/10.1016/S0169-409X\(00\)00129-0](https://doi.org/10.1016/S0169-409X(00)00129-0).
- Mitra, S. and Dash R. 2018. Natural Products for the Management and Prevention of Breast Cancer. *Evidence-based Complement Alternative Medicine*, 2018, 1-23. <https://doi.org/10.1155/2018/8324696>.
- Nishinarizki, V., Hardianto, A., Gaffar, S., Muchtaridi, M., and Herlina, T. 2022. Virtual Screening Campaigns and ADMET Evaluation to Unlock the Potency Of Flavonoids from Erythrina as 3clpro SARS-COV-2 Inhibitors. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 001-011, <https://doi.org/10.7324/JAPS.2023.130209>.
- Niivehmas, S.P., Manivannan, E., Rauhamäki, S., Huuskonen, J., and Pentikäinen, O.T. 2016. Identification of Estrogen Receptor A Ligands with Virtual Screening Techniques. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, 64, 30-39. <https://doi.org/10.1016/j.jmgm.2015.12.006>.
- Paech K, Webb P, Kuiper GG, Nilsson, S., Gustafsson, J., Kushner, P.J., and Scanlan, T.S. 1997. Differential Ligand Activation Of Estrogen Receptors Eralpha and Erbeta at AP1 Sites. *Science*, 277(5331):1508-1510. <https://doi.org/10.1126/science.277.5331.1508>.
- Patel, A. R., Hardianto, A., Ranganathan, S., and Liu, F. 2017. Divergent Response of Homologous ATP Sites to Stereospecific Ligand Fluorination for Selectivity Enhancement. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 15(7), 1570–1574. <https://doi.org/10.1039/C7OB00129K>.
- Protein Data Bank (PDB). <<https://www.rcsb.org>> (diakses pada 11 Agustus 2021).
- Raj, R. 2021. Analysis of non-structural proteins, NSPs of SARS-CoV-2 as targets for computational drug designing. *Biochemistry and Biophysics Reports*, 25, 100847. <https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2020.100847>.
- Sari, V.M., Nurlelasari, Harneti, D., Maharani, R., Indrayati, Azmi, M.N., and Supratman, U. 2020. Triterpenoid and Steroid from the Rind of *Chisocheton macrophyllus* (Meliaceae). *Journal of Physics: Conference Series*, 1494 (2020), 012025. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1494/1/012025>.
- Sari, S.E., Harahap, W.A., and Saputra, D. 2018. Pengaruh Faktor Risiko Terhadap Ekspresi Reseptor Estrogen Pada Penderita Kanker Payudara Di Kota Padang. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 7, 461-468. <https://doi.org/10.25077/jka.v7i4.902>.
- Seca, A. M. L. and Pinto, D. C. G. A. 2018. Plant Secondary Metabolites as Anticancer Agents: Successes in Clinical Trials and Therapeutic Application. *International Journal of Molecular Science*, 19(1), 263. <https://doi.org/10.3390/ijms19010263>.
- Sikumbang, D.A. 2020. Stigmast-5-en-3 $\beta$ -ol dari Ekstrak Kulit Batang *Chisocheton lasiocarpus* (Meliaceae). *Skripsi Sarjana S1 Kimia*. Universitas Padjadjaran.
- Sulasikin, S. 2020. Senyawa Steroid Baru dari Ekstrak *n*-Heksana Kulit Batang *Chisocheton macrophyllus*. *Skripsi Sarjana S1 Kimia*. Universitas Achmad Yani.
- Swiss Institute of Bioinformatics (SIB). *SwissADME*. <<http://www.swissadme.ch/>> (diakses pada 11 Agustus 2021).



- Tariq, A., Sadia, S., Pan, K., Ullah, I., Mussarat, S., Sun, F., Abiodun, O.O., Batbaatar, A., Li, Z., and Song, D., 2017. A Systematic Review on Ethnomedicines of Anticancer Plants. *Phytotherapy Research*, 31, 202–264. <https://doi.org/10.1002/ptr.5751>.
- Tasyriq, M., Najmuldeen, I.A., In, L.L.A., Mohamad, K., Awang, K., and Hasima, N. 2012.  $7\alpha$ -Hydroxy- $\beta$ -Sitosterol from *Chisocheton tomentosus* Induces Apoptosis via Dysregulation of Cellular Bax/Bcl-2 Ratio and Cell Cycle Arrest by Downregulating ERK1/2 Activation. *Hindawi Publishing Corporation*, 2012, 1-12. <https://doi.org/10.1155%2F2012%2F765316>.
- Xue, M, Zhang K, Mu K, Xu, J., Yang, H., Liu, Y., Wang, B., Wang, Z., Li, Z., Kong, Q., Li, X., Wang, H., Zhu, J., and Zhuang, T. 2019. Regulation of Estrogen Signaling and Breast Cancer Proliferation by An Ubiquitin Ligase TRIM56. *Oncogenesis*, 8(30), 1-14. <https://doi.org/10.1038/s41389-019-0139-x>.
- Yang, H., Lou, C., Sun, L., Li, J., Cai, Y., Wang, Z., Li, W., Liu, G., and Tang, Y. 2019. Admetsar 2.0: Web-Service For Prediction and Optimization of Chemical ADMET Properties. *Bioinformatics*, 35, 1067–1069. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty707>.
- Yusuf, M., Hardianto, A., Muchtaridi, M., Nuwarda, R. F., and Subroto, T. 2019. Introduction of Docking-Based Virtual Screening Workflow Using Desktop Personal Computer. *Encyclopedia of Bioinformatics and Computational Biology*, 9(2019), 688-699, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809633-8.20277-X>.