

Studi in Silico Senyawa Metabolit Sekunder Daun Kenikir (*Cosmos Caudatus* Kunth.) Sebagai Antikanker Ovarium terhadap ESR-1

Kevin Gabriel*, Nafisa Nurfatma Hidayat, Fitri Azlia Khaerani, Prodio Efa Gaharani

Jurusan Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Padjajaran.
Jalan Raya Bandung Sumedang KM 21, Jatinangor, Jawa Barat, 45363

E-mail: kevingabriel71076@gmail.com

Diterima 6 Juli 2024

Disetujui 10 Oktober 2024

Abstrak

Kanker ovarium merupakan salah satu penyakit dengan penyumbang angka kematian yang tinggi melalui reseptor *estrogen receptor alpha* (ESR1) sebagai salah satu penyebab timbulnya kanker ovarium. Terapi terkini pada kanker ovarium dapat menyebabkan efek samping dan biaya yang mahal. Oleh karena itu dibutuhkan terapi alternatif dengan efek samping yang lebih sedikit serta biaya yang lebih terjangkau. Tanaman herbal yang kaya akan kandungan flavonoid dan asam fenolat serta memiliki aktivitas antikanker dengan mekanismenya sebagai pemicu apoptosis pada sel kanker ovarium salah satunya berupa daun kenikir (*Cosmos caudatus*). Studi dilakukan melalui metode skrining farmakofor dan molecular docking secara in silico dengan reseptor ESR-1 (Kode PDB:1SJ0). Selain itu, dilakukan juga prediksi absorpsi, distribusi, dan toksisitas melalui laman PreADMET serta uji kesesuaian Lipinski Rule of Five. Hasil dari penelitian ini menyimpulkan bahwa luteolin merupakan senyawa yang paling berpotensi sebagai inhibitor reseptor ESR-1 dengan nilai pharmacophore fit-score sebesar 51,36, binding energy sebesar -8,43 kkal/mol, konstanta inhibisi sebesar $66.366 \times 10^{-2} \mu\text{M}$, dan ikatan hidrogen sebagai interaksi ligan-reseptor.

Kata kunci: doking molekuler, daun kenikir, ESR1, kanker ovarium, studi in silico

Abstract

Ovarian cancer is one of the diseases with a high mortality rate through estrogen receptor alpha (ESR1) as one of the causes of ovarian cancer. Current therapies for ovarian cancer can cause side effects and are expensive. Therefore, alternative therapies with fewer side effects and more affordable costs are needed. One of the herbs that is rich in flavonoid and phenolic acid content which has anticancer activity with its mechanism as a trigger for apoptosis in ovarian cancer cells is Kenikir leaf (*Cosmos caudatus*). The study was conducted through pharmacophore screening and molecular docking methods in silico with ESR-1 receptor (PDB code:1SJ0). In addition, absorption, distribution, and toxicity predictions were also carried out through the PreADMET page and the Lipinski Rule of Five suitability test. The results of this study concluded that luteolin is the most potential compound as an ESR-1 receptor inhibitor with a pharmacophore fit-score value of 51.36, binding energy of -8.43 kcal/mol, inhibition constant of $66.366 \times 10^{-2} \mu\text{M}$, and hydrogen bonds as ligand-receptor interactions.

Keywords: ESR1, in silico study, kenikir leaves, molecular docking, ovarian cancer

How to cite:

Gabriel K., Hidayat N.N., Khaerani F.A., Gaharani P.E. (2024). Studi in silico senyawa metabolit sekunder daun kenikir (*cosmos caudatus kunth.*) sebagai antikanker ovarium terhadap ESR-1. *Indonesian Journal of Mathematics and Natural Sciences*, 47(2), 85-98.

PENDAHULUAN

Kanker adalah pertumbuhan sel yang tidak normal dan menyebar ke tubuh bahkan menyebabkan kematian. Menurut Riset Kesehatan Dasar tahun 2018, terdapat 1,79% (per mil) penderita kanker di Indonesia. Kanker ovarium menjadi salah satu penyakit yang berkontribusi besar terhadap tingginya tingkat kematian di Indonesia. Kanker ovarium (indung telur) ditandai dengan

kondisi keberadaan tumor ganas primer ditimbulkan dari sel epitel skuamosa. Berdasarkan World Cancer Research Fund International (WCRF) terdapat 324.603 kasus kanker ovarium baru pada tahun 2022. Indonesia menduduki peringkat 4 terbesar kasus kanker ovarium. Di Indonesia, terdapat 15.130 kasus kanker ovarium baru dengan 9.673 kasus kematian (WCRF, 2024).

Ovarium adalah organ utama dalam sintesis estrogen. Selama proses tumorigenesis, estrogen mengatur aktivitas fisiologis penting epitel ovarium melalui berbagai sub tipe reseptor hormon, termasuk pengaturan keseimbangan, proliferasi, dan diferensiasi yang tidak normal (Li *et al.*, 2021). Gen *estrogen receptor alpha* (ESR1) berada di dalam nukleus dan dapat membentuk homodimer atau heterodimer dengan ESR2 untuk mengatur berbagai proses fisiologis (Bao *et al.*, 2019). Penelitian menunjukkan bahwa ESR1 memiliki keterkaitan dengan kanker ovarium (Gong *et al.*, 2020). ESR1 diekspresikan hingga 60% pada tumor epitel ovarium, dengan tingkat ekspresi yang lebih tinggi dibanding ovarium normal (Sieh *et al.*, 2014). Ekspresi ESR1 meningkat secara signifikan dalam jaringan ovarium dan mendorong perkembangan kanker ovarium (Li *et al.*, 2021; Wang *et al.*, 2019). Tingginya ekspresi reseptor estrogen mendorong penyebaran melalui pembuluh limfatik atau darah pada kanker ovarium serosa tingkat tinggi, yang berkaitan dengan prognosis klinis yang buruk (Matsuo *et al.*, 2014). Ekspresi berlebih dari ESR1 mendorong proliferasi, migrasi dan invasi sel kanker ovarium SKOV3 dan HO8910, dan penghambatan ESR1 dapat menghambat perkembangan kanker ovarium (Wang *et al.*, 2022). Oleh karena itu, ESR1 dapat berfungsi sebagai biomarker potensial untuk stratifikasi risiko dan deteksi metastasis regional pada pasien dengan kanker ovarium.

Pengobatan secara farmakologi menggunakan kemoterapi berbasis platinum, seperti Carboplatin dan Cisplatin, merupakan pengobatan standar untuk kanker ovarium yang dikombinasikan dengan Paclitaxel. Pengobatan tersebut merupakan pengobatan standar kanker ovarium dalam dua dekade terakhir. Pada awalnya, mayoritas pasien memiliki respon yang baik terhadap pengobatan ini, namun sekitar 80% wanita pengidap kanker ovarium mengalami resistensi (Damia dan Brogini, 2019). Cisplatin dapat mematikan sel tumor dan kanker, namun juga menimbulkan toksisitas dan kerusakan serius pada jaringan atau organ normal apabila digunakan dalam jangka waktu panjang (Hazlitt *et al.*, 2018). Toksisitas cisplatin pada organ lain adalah gastrotoksitas, ototoksitas, myelosuppression, reaksi alergi dan beberapa efek toksik reproduksi (Aldossary, 2019).

Pengobatan non-farmakologi terhadap pasien kanker ovarium adalah pembedahan. Pembedahan yang dilakukan dapat mengatasi perfusi obat yang meningkat, respon imun biologis, fraksi pertumbuhan sel tumor meningkat, dan menghindari resistensi obat yang kemungkinan besar terjadi setelah mendapat terapi sistemik berbasis platinum. Namun, penyakit kerap berkembang atau terulang pada lebih dari 80% wanita (Coleman *et al.*, 2019).

Untuk mengatasi toksisitas yang ditimbulkan Cisplatin perlu dikembangkan obat kemoterapi berbasis platinum generasi kedua berupa Carboplatin. Carboplatin mampu menurunkan laju hidrasi dengan keberadaan ligan bidentate cyclobutane dicarboxylic acid dan cenderung lebih aman sehingga efek hepatotoksitas, nefrotoksitas, neurotoksisitas, dan ototoksitas dapat ditekan (Dilruba & Kalayda 2016; Ho *et al.*, 2016; Hu *et al.*, 2017). Namun demikian, pasien yang resisten terhadap obat berbasis platinum menjadi permasalahan baru. CPR (*cisplatin resistance*) merupakan salah satu tantangan untuk mengurangi kemanjuran obat antikanker. Beberapa mekanisme kompleks yang mendasari terjadinya resistensi Cisplatin pada pengobatan kanker ovarium adalah perubahan transportasi seluler Cisplatin (a); inaktivasi Cisplatin secara intraseluler (b); dihamatnya proses apoptosis (c); penggantian pada proses autofag (d); penggantian mitokondria sel kanker (e); penggantian sitoskeleton sel kanker (f); dan terjadi perubahan lingkungan di area sel kanker/tumor (g) (Zon & Bednarek, 2023).

Salah satu alternatif pengobatan kanker adalah tanaman berkhasiat, yaitu daun kenikir. Daun kenikir memiliki rasa manis dan bersifat dingin. Daun kenikir banyak dimanfaatkan sebagai lalap bagi masyarakat Indonesia. Daun kenikir (*Cosmos caudatus*) merupakan salah satu tanaman yang memiliki aktivitas antikanker. Beberapa metabolit sekunder yang terkandung dalam kenikir antara lain saponin, flavonoid, polifenol, dan minyak atsiri. Daun kenikir mengandung flavonoid dan turunannya yaitu quercetin, kaempferol, myricetin, katekin, luteolin, apigenin, quercetin 3-O-rhamnoside, quercetin 3-O-glucoside, quercetin 3-O-xyloside, quercetin 3-O-arabinofutanoside, dan rutin (Ahda *et al.*, 2023). Daun kenikir memiliki asam fenolat seperti asam klorogenat, asam neoklorogenat, asam kafeat, dan asam ferulat (Pebriana *et al.*, 2017). Senyawa flavonoid mampu menginduksi terjadinya apoptosis. Apoptosis adalah kematian sel terprogram dan berperan penting dalam proses perkembangan kanker (Abotaleb *et al.*, 2019).

Penelitian tentang daun kenikir masih terbatas terutama perannya sebagai obat kanker ovarium dengan metode *in silico*. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis secara *in silico* senyawa flavonoid pada daun kenikir seperti quercetin, kaempferol, myricetin, katekin, luteolin, apigenin, rutin, asam klorogenat, asam neoklorogenat, asam kafeat, dan asam ferulat terhadap reseptor estrogen alfa (ESR-1). Hasil penelitian daun kenikir ini dapat digunakan dalam pengembangan obat herbal sebagai terapi masa depan pada pasien kanker ovarium.

METODE

Studi pustaka dilakukan untuk mengidentifikasi metabolit sekunder dan aktivitas yang terkandung pada daun kenikir. Reseptor juga ditentukan melalui studi literatur di PubMed yang digunakan untuk simulasi secara komputasi dengan ligan. Struktur protein ESR1 yang digunakan pada studi ini diunduh dari website RCSB Protein Data Bank (PDB) (<https://www.rcsb.org/>) dengan kode PDB ID: 3RCD. Setelah itu, protein dipreparasi menggunakan BIOVIA Discovery Studio, sedangkan ligan dipreparasi dengan menggambar struktur 2D pada program ChemDraw Ultra 12.0 dan dilakukan minimasi energi ke bentuk 3D menggunakan program Chem3D Pro 12.0.

Struktur molekul senyawa uji digambarkan dalam bentuk dua dimensi menggunakan perangkat lunak ChemDraw Ultra 12.0. Selanjutnya, sifat fisikokimia senyawa uji diprediksi secara online melalui situs SwissADME dengan mengunggah file struktur tiga dimensi yang sebelumnya telah disimpan dalam format .mol. Setelah itu, hasil analisis digunakan untuk menentukan senyawa uji mana yang memenuhi Lipinski's Rule of Five (RO5) untuk mengevaluasi kemungkinan senyawa tersebut dapat digunakan sebagai obat dengan rute oral.

Prediksi absorpsi, distribusi, metabolisme, dan toksisitas dari senyawa uji dan obat pembanding dilakukan dengan menggambarkan struktur senyawa pada situs web ADMETLab 2.0 <https://admetmesh.scbdd.com/>. Dalam laman tersebut, hasilnya akan mencakup berbagai aspek, termasuk nilai *human intestinal absorption* (HIA) dan *human colon adenocarcinoma cell lines* (Caco-2) untuk profil absorpsi, nilai *plasma protein binding* (PPB) dan *blood-brain barrier* (BBB) untuk profil distribusi, serta potensi mutagenik dan karsinogenik untuk profil toksisitas.

Pemodelan dilakukan untuk menentukan farmakofor dari kompleks ligan-protein. Pertama, database senyawa aktif dan decoy disiapkan dengan membuka situs dude.docking.org dan mengunduh senyawa aktif serta decoy dalam format sdf. Selanjutnya, file "active.sdf" dibuka menggunakan perangkat lunak Biovia Discovery Studio. Untuk preparasi database senyawa uji, unduh semua struktur senyawa uji dalam format sdf, masukkan ke dalam LigandScout, dan lakukan minimisasi pada semua senyawa uji. Buka kurva ROC pada file pmz dari senyawa aktif, kemudian masukkan file decoy.sdf dan active.sdf untuk menentukan nilai AUC tertinggi dari 10 model senyawa yang di-screening. Model dengan AUC tertinggi dipilih untuk digunakan dalam skrining, lalu dilakukan analisis data senyawa uji berdasarkan pharmacophore fit score.

Validasi metode penambatan molekuler dilakukan dengan menggunakan aplikasi Autodock Tools (Autodock 4.2.6 dan Autogrid) melalui proses docking ulang (redocking) ligan asli pada protein ESR-1 yang telah dihapus ligan alaminya. Parameter yang digunakan untuk validasi metode ini adalah Root Mean Square Deviation (RMSD), dan nilai RMSD yang diterima harus berada pada nilai $\leq 2,0$ Å.

Simulasi penambatan molekuler pada senyawa daun kenikir (*Cosmos caudatus*) dan senyawa pembanding dilakukan menggunakan program Autodock Tools (Autodock 4.2.6). Proses ini dimulai dengan modifikasi struktur ligan dan protein/reseptor yang disimpan dengan format PDBQT. Setelah itu, dilakukan simulasi penambatan molekuler dengan penetapan ukuran grid box 40 x 40 x 40 dengan koordinat pusat grid box, yaitu $x = 30.885$; $y = -1.067$; dan $z = 23.464$. Kemudian, dilakukan implementasi hasil dengan 100 runs GA Lamarckian dengan ukuran populasi 150 docking. Parameter dari simulasi penambatan molekuler berupa clustering histogram, RMSD, perkiraan energi bebas pengikatan, serta perkiraan konstanta penghambatan.

Konformasi kompleks hasil simulasi penambatan molekuler, interaksi ligan, dan diagram 2D dapat dilihat melalui perangkat lunak BIOVIA Discovery Studio. Visualisasi interaksi antara ligan-reseptor dilihat dengan membuat file complex dari hasil docking (.dlg), kemudian dimasukkan ke dalam BIOVIA Discovery Studio.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kimia komputasi dapat mempermudah pengembangan obat yang sangat dinamis dan berkembang dengan cepat. Dua bidang penting dalam penemuan obat adalah prediksi fisikokimia dan farmakokinetik yang menjelaskan bagaimana dua senyawa kimia berinteraksi dalam tubuh manusia. Studi fisikokimia menjelaskan sifat fisik dan kimia senyawa yang merujuk pada skor absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi, dan toksisitas (ADME/Toks) dapat diprediksi dengan cara bagaimana mekanisme senyawa kimia bekerja pada tubuh manusia (Abdullah *et al.*, 2022). Perbandingan prediksi ADME/Toks dilakukan terhadap kesebelas senyawa dengan titik akhir klasifikasi dan nilai probabilitas menggunakan enam simbol: 0-0,01 (---); 0,1-0,3 (--); 0,3-0,5 (-); 0,5-0,7 (+); 0,7-0,9 (++) , dan (0,9-1,0) (ADMETlab 2.0, 2021).

Seluruh perbandingan kesebelas senyawa hasil prediksi ADME/Toks dilakukan seperti pada Tabel 1. Prediksi absorpsi kesebelas senyawa dilihat berdasarkan nilai Caco-2 dan HIA. Caco-2 adalah pendekatan untuk mengetahui permeabilitas obat secara *in vivo* berdasarkan morfologi dan kesamaan fungsional. Apabila nilai Caco-2 > -5.15 log cm/s maka senyawa tersebut memiliki permeabilitas Caco-2 yang baik sehingga dari kesebelas senyawa uji, senyawa dengan nilai Caco-2 yang baik adalah luteolin, kaempferol, apigenin, asam kafeat, dan asam ferulat (Tabel 1). Nilai HIA menjadi salah satu indikator alternatif untuk mengetahui bioavailabilitas oral dan penyerapan obat pada usus. Nilai HIA < 30% bersifat kurang terabsorpsi dan diklasifikasikan sebagai HIA +, begitupun sebaliknya. Oleh karena itu, kesebelas senyawa memiliki dapat diserap dengan baik dalam usus kecuali rutin, asam klorogenat, dan asam neoklorogenat (Tabel 1).

Nilai PPB dan BBB menjadi salah dua opsi dalam prediksi kemampuan senyawa untuk berdistribusi. PPB dapat menggambarkan pengikatan obat ke protein plasma yang mempengaruhi sifat farmakodinamikanya dan bioavailabilitas oral karena konsentrasi obat bebas ditentukan saat obat mengikat protein. Nilai PPB <90% bersifat baik karena memiliki indeks terapeutik yang tinggi, begitupun sebaliknya. Oleh karena itu, nilai PPB yang baik berada pada senyawa rutin, asam kafeat, asam klorogenat, asam neoklorogenat, dan asam ferulat (Tabel 1). Sementara itu, nilai penetrasi BBB diperlukan untuk obat yang bekerja di sistem saraf pusat karena senyawa yang terkandung harus mampu melewati sawar darah otak. Obat yang bekerja pada target perifer, BBB diperlukan sebagai preventif timbulnya efek samping pada sistem saraf pusat. Nilai logBBB <-1 diklasifikasikan sebagai BBB - atau mampu melewati sawar darah otak sehingga kesebelas senyawa memiliki nilai penetrasi BBB yang baik (Tabel 1).

Prediksi ADME/Toks yang terakhir merupakan prediksi toksikologi yang dilihat berdasarkan nilai mutagenik dan karsinogenik. Sifat mutagenisitas dilihat berdasarkan nilai AMES Toxicity. Mutagenisitas merupakan suatu kemampuan senyawa dalam menciptakan perubahan permanen yang ditransmisikan pada jumlah atau struktur materi genetik sel atau organisme (Sundar *et al.*, 2018). Interpretasi hasil dikategorikan menjadi AMES negatif (-) dan AMES positif (+). Semakin tinggi nilai AMES maka senyawa tersebut semakin mutagenik sehingga senyawa dengan sifat mutagen paling tinggi terdapat pada rutin. Selain itu, terdapat sifat karsinogenik dengan mekanisme kimiawinya yang mampu merusak genom atau mengganggu proses metabolisme seluler. Kategori 1 (+) bersifat karsinogen sedangkan kategori 0 (-) bersifat non karsinogenik sehingga dari kesebelas senyawa, asam ferulat memiliki sifat karsinogenik paling tinggi.

Tabel 1. Hasil prediksi ADME/Toks

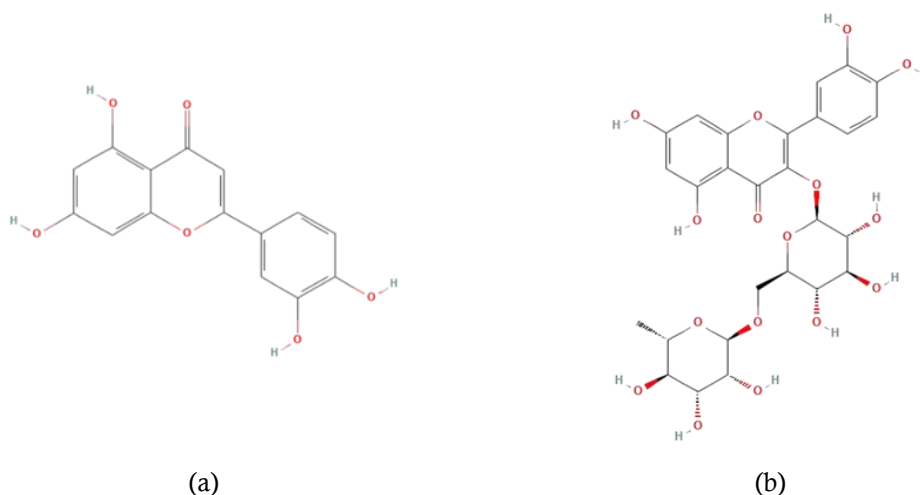
No	Nama Senyawa	Absorpsi		Distribusi		Toksitas	
		HIA	Caco2 (log cm/s)	PPB (%)	BBB	Mutagenik	Karsinogenik
1	Luteolin	---	-5.028	95.436	---	+	---
2	Quercetin	---	-5.204	95.496	---	+	---
3	Kaempferol	---	-4.974	97.861	---	+	---
4	Rutin	++	-6.470	87.111	---	++	---
5	Apigenin	---	-4.847	97.255	---	-	--
6	Catechin	---	-5.846	93.350	---	+	--
7	Asam Kafeat	---	-4.959	66.731	---	--	-
8	Asam Klorogenat	-	-6.037	59.041	--	---	---
9	Asam Neoklorogenat	+	-5.958	59.270	--	---	---
10	Asam Ferulat	---	-4.707	78.099	--	---	++
11	Myricetin	---	-5.653	92.766	---	-	---

Pedoman sifat fisikokimia yang diterima secara luas adalah aturan lima Lipinski (RO5), yang dipenuhi oleh molekul obat yang ideal. Aturan ini menawarkan prediksi kemiripan obat dari aktivitas biologis yang dimiliki senyawa kimia juga dirancang untuk rute pemberian oral. (Ahmad *et al.*, 2023). Aturan Lipinski terdiri dari berat molekul kurang dari 500 Da, nilai log P kurang dari 5, jumlah donor ikatan hidrogen kurang dari 5, dan jumlah akseptor ikatan hidrogen kurang dari 10. Jika suatu kandidat bahan obat tidak memenuhi salah satu syarat Lipinski maka masih ditoleransi atau dengan kata lain masih lolos dalam aturan lipinski. Namun, apabila terdapat dua atau lebih kriteria yang tidak memenuhi maka memiliki resiko besar bahwa senyawa tersebut mempunyai kemampuan yang kecil dalam aktivitas oral dan bioavailabilitas (Lipinski *et al.*, 2001). Sebelas metabolit sekunder yang terdapat pada daun kenikir dilakukan prediksi berdasarkan aturan lipinski yang disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil aturan Lipinski rule of five

No	Nama Senyawa	Berat Molekul (<500 Da)	Log P (<5)	Ikatan Hidrogen		Penerapan Lipinski
				Donor (<5)	Akseptor (<10)	
1	Luteolin	286.24	2.28	4	6	Memenuhi
2	Quercetin	302.23	1.98	5	7	Memenuhi
3	Kaempferol	286.24	2.28	4	6	Memenuhi
4	Rutin	610.50	-1.68	10	16	Tidak Memenuhi
5	Apigenin	270.24	2.57	3	5	Memenuhi
6	Catechin	290.27	1.54	5	6	Memenuhi
7	Asam Kafeat	180.15	1.19	3	4	Memenuhi
8	Asam Klorogenat	354.30	-0.64	6	9	Tidak Memenuhi
9	Asam Neoklorogenat	354.31	-0.64	6	9	Tidak Memenuhi
10	Asam Ferulat	192.16	0.98	2	4	Memenuhi
11	Myricetin	318.23	1.69	6	8	Memenuhi

Dilihat dari hasil analisis Lipinski rule of five, terdapat 8 senyawa dalam daun kenikir yang memenuhi aturan lipinski yang dapat dijadikan sediaan oral. Tiga senyawa yang tidak memenuhi persyaratan untuk dijadikan sediaan oral adalah rutin, asam klorogenat, dan asam neoklorogenat (Tabel 2). Perbandingan struktur senyawa yang memenuhi aturan dengan yang tidak memenuhi aturan Lipinski terdapat pada Gambar 1. Ketiga senyawa yang tidak memenuhi aturan Lipinski tersebut memiliki berat molekul lebih dari 500 Da yang akan menyebabkan tidak dapat berdifusi menembus membran sel dan log P negatif yang akan sulit menembus membran lipid bilayer. Senyawa rutin memiliki ikatan hidrogen akseptor lebih dari 10 yang menyebabkan energi yang dibutuhkan untuk proses absorpsi akan semakin tinggi. (Lipinski *et al.*, 2001; Faqiha *et al.*, 2022).



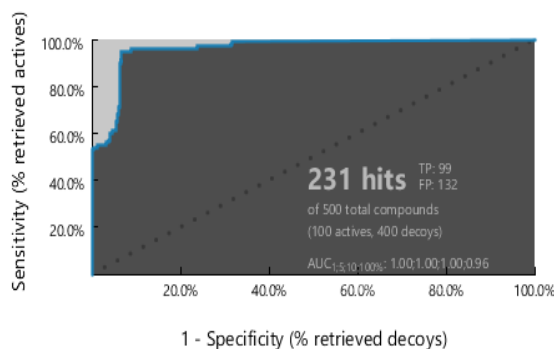
Gambar 1. Struktur luteolin yang memenuhi aturan Lipinski (1a) dan struktur rutin yang tidak memenuhi aturan Lipinski (1b).

Tahap skrining farmakofor dilakukan dengan mempersiapkan senyawa aktif dan senyawa decoy. Senyawa aktif dan decoy pada reseptor ESR-1 (1SJ0) diunduh terlebih dahulu pada laman DUD-E kemudian disiapkan dengan software LigandScout. Database yang digunakan berjumlah 100 senyawa aktif dan 400 senyawa decoy. Tahap skrining model farmakofor dilakukan untuk memastikan validitas model farmakofor dan bisa digunakan untuk skrining senyawa uji,. Hasil validasi model farmakofor menggunakan kurva ROC terdapat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Validasi Model Farmakofor dengan Kurva ROC

Model Farmakofor	Hits	True Positive	False Positive	AUC 100%
1	220	99	121	0,96
2	213	99	114	0,96
3	202	99	103	0,96
4	219	99	120	0,96
5	218	99	119	0,96
6	231	99	132	0,96
7	208	99	109	0,96
8	231	99	132	0,96
9	218	99	119	0,96
10	230	99	131	0,96

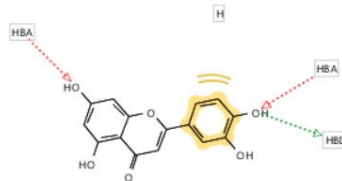
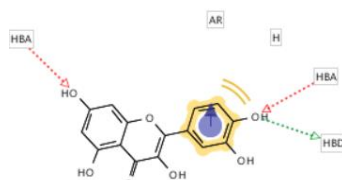
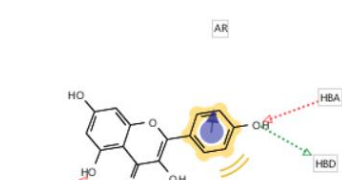
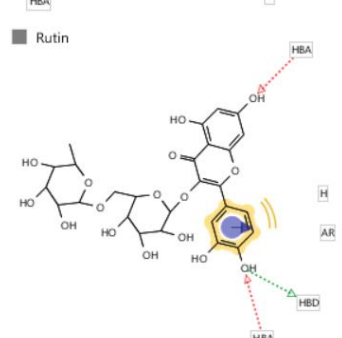
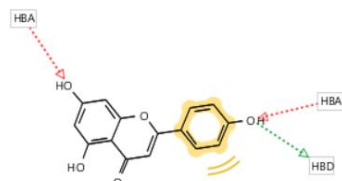
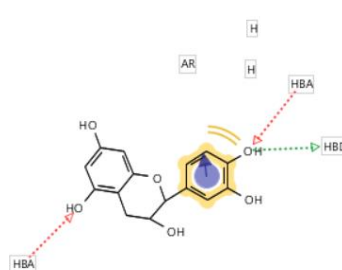
Pada kurva ROC, sumbu x menunjukkan persentase tingkat false positive (decoy), sedangkan sumbu y menunjukkan persentase tingkat true positive (active). Di lain sisi, hits menunjukkan seberapa banyak senyawa aktif dan decoy yang berikatan dengan model tersebut (Luo *et al.*, 2021). Berdasarkan data yang diperoleh, model 6 merupakan yang terbaik karena memiliki nilai *area under curve* (AUC) sebesar 0,96 dan memiliki total Hits terbanyak pada senilai 231 seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2. Suatu model dianggap mampu membedakan senyawa aktif dan decoy jika nilai AUC pada kurva ROC >0,7 (Sangande *et al.*, 2020). Oleh karena itu, model 6 dinyatakan valid dan dapat digunakan untuk skrining farmakofor pada senyawa uji.



Gambar 2. Model farmakofor dengan hasil terbaik (Model 6)

Setelah didapat model dengan hasil terbaik, dilakukan skrining farmakofor pada seluruh senyawa uji menggunakan model tersebut. Fitur farmakofor yang paling penting meliputi: akseptor ikatan hidrogen (HBA), donor ikatan hidrogen (HBD), area hidrofobik (H), gugus terionisasi positif dan negatif (PI/NI), gugus aromatik (AR), serta area koordinasi logam. Model farmakofor yang diperoleh dari proses validasi akan digunakan untuk melakukan penyaringan virtual berdasarkan model farmakofor tersebut (Choudhury dan Sastry, 2019). Data hasil skrining senyawa uji dapat dilihat pada Tabel 4.

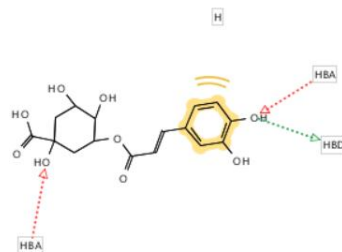
Tabel 4. Hasil skrining senyawa uji terhadap model 6

No.	Senyawa Uji	Pharmacophore-Fit Score	Fitur Farmakofoor
1.	Luteolin	51,36	
2.	Quercetin	46,21	
3.	Kaempferol	43,48	
4.	Rutin	51,28	
5.	Apigenin	43,55	
6.	Catechin	50,19	

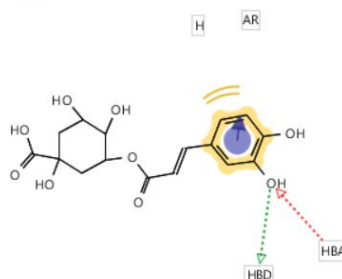
7. Asam Kafeat 44,75



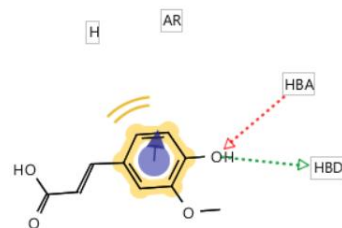
8. Asam Klorogenat 51,63



9. Asam Neoklorogenat 43,64



10. Asam Ferulat 46,67



11. Myricetin -

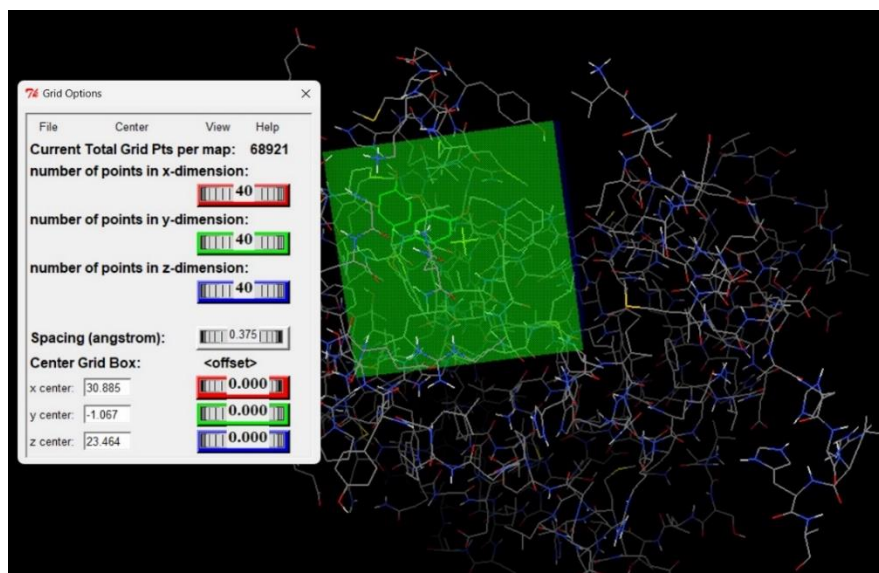
Hasil skrining menunjukkan bahwa 10 dari 11 senyawa uji cocok terhadap model farmakofor yang digunakan. Nilai pharmacophore-fit score tertinggi terdapat pada senyawa asam klorogenat dan luteolin (51,63; 51,36). Nilai pharmacophore-fit yang diharapkan adalah > 50%, karena menunjukkan keaktifan yang baik. Sebaliknya, fitur dianggap kurang baik jika nilai pharmacophore-fit berada dalam kisaran 30-50%. Tingkat keaktifan senyawa uji terhadap reseptornya berkorelasi dengan rentang skor pharmacophore-fit pada model farmakofor (Muchtaridi *et al.*, 2017). Ini menunjukkan bahwa asam klorogenat dan luteolin adalah yang paling sesuai dengan model farmakofor nomor 6 dibandingkan dengan senyawa uji lainnya.

Proses persiapan reseptor dan ligan alami adalah salah satu tahap dalam docking yang dimulai dengan mengunduh reseptor yang mengandung ligan alami. Reseptor yang digunakan pada studi ini adalah ESR-1 dengan kode PDB berupa 1SJ0. Pada reseptor ini, terdapat kompleks antagonis ligan 4-D yang bekerja sebagai inhibitor dari reseptor ESR-1. Tahap berikutnya melibatkan penggunaan aplikasi Biovia Discovery Studio untuk menghilangkan molekul air dan grup ligan, dengan tujuan mengurangi potensi bias dan memastikan hanya ligan dan reseptor yang berinteraksi, karena molekul air dapat memperpanjang waktu docking (Dewi dan Ginarsih, 2021). Dalam Autodock, reseptor akan ditambahkan muatan parsial Kollman dan atom hidrogen disisipkan pada bagian polar. Penambahan hidrogen ini bertujuan untuk menciptakan kondisi docking yang menyerupai kondisi pH tubuh. Muatan parsial Kollman ditambahkan karena digunakan dalam perhitungan atau penilaian selama proses redocking (Fakih *et al.*, 2021). Reseptor yang sudah disiapkan lalu disimpan dalam format file .pdbqt. Di lain sisi, persiapan ligan alami dilakukan dengan menghapus molekul air dan grup reseptor 1SJ0 hingga tersisa grup ligan alami. Selanjutnya, ligan dipreparasi dengan software Autodock

dengan diberi tambahan atom hidrogen dan muatan gasteiger yang akan digunakan pada saat proses redocking. Ligan yang telah disiapkan disimpan dengan format file .pdbqt.

Preparasi kesebelas ligan uji dilakukan dengan pengoptimalan geometri menggunakan Chem3D lalu diminimalisasi energinya dengan tujuan untuk menghasilkan energi terendah yang menunjukkan kestabilan struktur kimia ligan serta menghasilkan struktur dengan lipatan yang berbeda. Tahapan berikutnya dilanjutkan preparasi menggunakan software Autodock dengan tahapan yang sama ketika melakukan preparasi ligan alami.

Selanjutnya, dilakukan penentuan sisi aktif dari reseptor ESR-1 (1SJ0). Hal ini dapat dilakukan dengan memposisikan grid box pada ligan alami (*center on ligand*) seperti pada Gambar 3.



Gambar 3. Grid Box Sisi Aktif Reseptor ESR-1 terhadap Ligan Alami

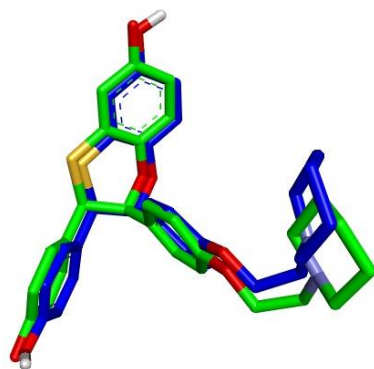
Gambar 3 menunjukkan grid box koordinat di mana area aktif dari reseptor ESR-1 (1SJ0) berikatan dengan ligan alami (Antagonist Ligand 4-D). Gridbox yang digunakan berukuran 40 x 40 x 40 serta posisinya terletak pada (x center: 30,885; y center: -1,067; z center: 23,464). Koordinat lokasi ikatan ligan alami dengan reseptor ESR-1 (1SJ0) yang sudah diketahui digunakan kembali pada saat melakukan docking pada ligan uji. Tujuan dilakukannya hal ini adalah untuk membandingkan interaksi antara ligan yang diuji dengan ligan alami terhadap reseptor ESR-1 (1SJ0).

Cluster RMSD pada ligan uji, reference RMSD pada ligan alami, konstanta inhibisi (KI), energi ikatan, dan interaksi dengan asam amino (ikatan hidrogen, ikatan Van der Waals, dan ikatan lainnya) merupakan faktor-faktor yang dijadikan parameter pada proses docking. Nilai Reference RMSD yang memenuhi syarat pada ligan alami harus <2 yang menandakan bahwa posisi ikatan ligan alami sebelum dan sesudah dilakukan redocking memiliki kemiripan, sehingga hal ini dapat menjadi validasi bahwa metode docking yang digunakan sudah tepat (Agistia *et al.*, 2015). Pada tahap berikutnya, file docking dibuat dalam bentuk Grid Parameter File (GPF) dan Docking Parameter (DPF) lalu dilakukan proses docking dengan menggunakan command prompt (cmd). Hasil redocking ligan alami kemudian dapat dilihat dalam file .dlg dan disajikan dengan jelas pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil *redocking* ligan alami (antagonist ligand 4-d)

Kode PDB	Gridbox	RMSD		Energi Ikatan (kkal/mol)	KI (μM)
		Reference RMSD	Cluster RMSD		
1SJ0	x :30,885 y : -1,067 z : 23,464	0,81	0,0	-13,92	62.29 x 10 ⁻⁶

Berikutnya, dilakukan juga visualisasi dengan software Biovia Discovery Studio 2021 dengan cara memasukkan file ligan alami sebelum dan sesudah proses redocking, lalu melakukan overlay pada keduanya.



Gambar 4. Overlay ligan alami sebelum (hijau) dan sesudah re-docking (biru)

Pada Tabel 5 dan Gambar 4 ditunjukkan overlay dari ligan alami sebelum dan sesudah proses redocking dengan nilai energy binding sebesar 13,92 kkal/mol, KI sebesar $62,29 \times 10^{-6} \mu\text{M}$, dan reference RMSD sebesar 0,81. Hal ini menandakan bahwa nilai reference RMSD yang didapatkan telah memenuhi persyaratan (Reference RMSD < 2), sehingga ligan alami sebelum dan sesudah redocking memiliki kemiripan posisi berikatan dengan reseptor ESR-1 (1SJ0).

Dilakukan juga proses docking pada kesebelas ligan uji (apigenin, katekin, luteolin, rutin, kaempferol, myricetin, quercetin, asam kafeat, asam klorogenat, asam neoklorogenat, dan asam ferulat) dengan menggunakan posisi gridbox yang sama (x center: 30,885; y center: -1,067; z center: 23,464). Proses docking dilakukan sebanyak 100 kali (100 run) untuk setiap ligan uji dan diambil koformer dengan hasil terbaik. Nilai cluster RMSD yang diambil pada ligan uji adalah yang bernilai 0,0, hal ini menandakan bahwa posisi atom-atom suatu koformer ligan memiliki kemiripan dengan koformer ligan pada cluster yang sama. Interpretasi ikatan antara ligan dan reseptor bersifat spontan ditandai dengan binding energi yang bernilai negatif. KI merupakan parameter yang menunjukkan afinitas antara ligan dengan protein target, di mana semakin rendah nilai konstanta inhibisi yang diperoleh maka semakin rendah hambatan ikatan ligan tersebut dengan protein target (Rena *et al.*, 2022). Interaksi ligan-reseptor dapat terjadi melalui beberapa mekanisme, di antaranya ikatan hidrogen dan ikatan Van der Waals. Namun, ikatan interaksi antara ligan dan reseptor yang diharapkan adalah ikatan hidrogen karena ikatan hidrogen merupakan ikatan yang paling kuat jika dibandingkan ikatan lainnya. Hasil docking ligan uji ditunjukkan pada Tabel 6.

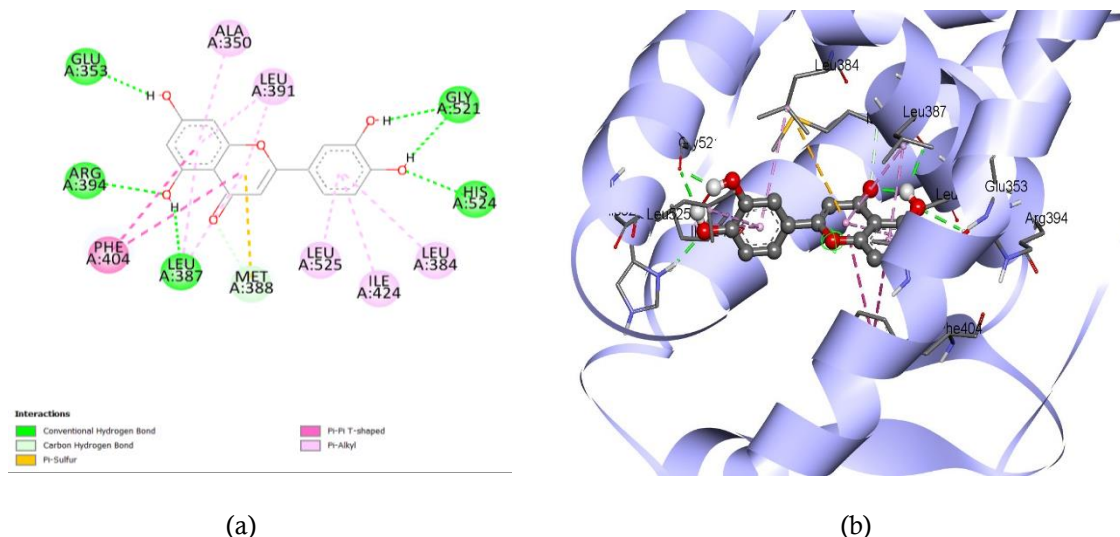
Tabel 6. Hasil penambatan molekuler

No.	Senyawa	Cluster RMSD	Binding Energy (kkal/mol)	KI (μM)	Interaksi dengan Reseptor		
					Ikatan Hidrogen	Ikatan Van der Waals	Lain-Lain
1.	Ligan Alami (Antagonist Ligand 4-D)	0,0	-13,92	$62,29 \times 10^{-6}$	GLU A:353 HIS A: 524 GLY A:521	THR A:346	TRP A:385 LEU A:354 ALA A:350 LEU A:525 LEU A:346 LEU A:387 LEU A:391 PHE A:404 ILE A:424 MET A:421
2.	Apigenin	0,0	-8,46	$62,925 \times 10^{-2}$	GLY A:521 HIS A:524 LEU A:387 ARG A:394 GLU A:353 MET A:388	-	LEU A:384 LEU A:525 LEU A:391 ALA A:350 ILE A:424
3.	Katekin	0,0	-8,2	$97,024 \times 10^{-2}$	LEU A:387 GLU A:353 HIS A:524 GLY A:521	-	PHE A:404 ALA A:350 ILE A:424 MET A:388 LEU A:391

							LEU A:525 MET A:421
4.	Kaempferol	0,0	-8,19	1,0	GLY A:521 HIS A:524 LEU A:387 ARG A:394 GLU A:353 MET A:388	-	LEU A:391 LEU A:525 ALA:350 PHE A:404 MET A:421
5.	Luteolin	0,0	-8,43	66,366 $\times 10^{-2}$	GLU A:353 ARG A:394 LEU A:387 GLY A:521 HIS A:524 MET A:388	-	MET A:388 PHE A:404 ALA A:350 LEU A:391 LEU A:525 LEU A:384 ILE A:424
6.	Myricetin	0,0	-7,87	1,71	ARG A:394 GLU A:353 THR A:347 MET A:388	-	LEU A:391 LEU A:384 ALA A:350 CYS A:530 LEU A:346 LEU A:387 LEU A:525
7.	Quercetin	0,0	-8,12	1,12	LEU A:346 GLU A:353 HIS A:524 GLY A:521	LEU A:345 ARG A:394 LEU A:391 MET A:388 LEU A:384 MET A:343 MET A:522	LEU A:394 PHE A:404 ALA A:350 LEU A:387 LEU A:525 ILE A:424 MET A:421
8.	Rutin	0,0	-8,86	32,152 $\times 10^{-2}$	CYS A:530 GLU A:353 ALA A:350 GLY A:521 THR A:347	-	TRP A:383 TYR A:526 LEU A:525 MET A:522 ILE A:424 LEU A:391 MET A:421 LEU A:346
9.	Asam Kafeat	0,0	-5,21	151,42	GLU A:353	-	LEU A:387 LEU A:391
10.	Asam Klorogenat	0,0	-6,79	10,49	CYS A:530 GLU A:353 ARG A:394 LEU A:346	-	THR A:347 LEU A:525 ALA A:350 LEU A:387
11.	Asam Neoklorogenat	0,0	-4,71	354,92	LEU A:346 LEU A:387 ARG A:394 GLU A:353 ASP A:351	-	ALA A:350 CYS A:530 LEU A:525
12.	Asam Ferulat	0,0	-7,6	2,7	GLU A:353 PHE A:404	-	ALA A:350 LEU A:387 LEU A:349

Hasil docking dari kesebelas ligan uji menunjukkan bahwa semua ligan uji mempunyai nilai energy binding yang negatif. Nilai energy binding terkecil terdapat pada senyawa rutin, apigenin, dan luteolin. Hal ini menandakan bahwa 11 ligan uji dapat berikatan secara langsung dengan reseptor ESR-1. Berikutnya nilai konstanta inhibisi yang didapat pada setiap ligan uji bervariasi, tetapi nilai konstanta inhibisi yang paling kecil terdapat pada senyawa rutin, apigenin, dan luteolin. Selain itu, kesebelas ligan uji juga memiliki interaksi dengan reseptor yang berbeda-beda. Ligan uji dengan ikatan hidrogen terbanyak adalah luteolin, kaempferol, dan apigenin dengan total 6 ikatan hidrogen. Berdasarkan dari hasil docking, kami menyimpulkan bahwa senyawa luteolin memiliki aktivitas yang

paling optimal yaitu dengan nilai binding energy sebesar 51,36, konstanta inhibisi sebesar $66.366 \times 10^{-2} \mu\text{M}$, serta 6 ikatan hidrogen yang menunjukkan interaksi yang kuat antara luteolin dengan reseptor ESR-1. Hal ini diperkuat juga dengan nilai pharmacophore fit-score luteolin pada model uji reseptor ESR-1 yang digunakan yaitu sebesar 51,36. Visualisasi interaksi luteolin dengan reseptor ESR-1 (1SJ0) secara 2D dan 3D ditunjukkan pada Gambar 5.



Gambar 5. Visualisasi interaksi luteolin dengan reseptor ESR-1 (1SJ0) secara 2D (a) dan 3D (b)

SIMPULAN

Terdapat 11 senyawa metabolit sekunder pada daun kenikir yang telah dilakukan studi secara in silico. Berdasarkan hasil dari analisis senyawa terhadap Lipinski Rules of Five, ADMET, skrining senyawa uji farmakofor, molecular docking, dan interaksi ligan-reseptor didapatkan bahwa luteolin merupakan senyawa yang paling potensial sebagai inhibitor reseptor ESR-1 dengan pharmacophore fit-score sebesar 51,36, binding energy sebesar -8,43 kkal/mol, KI sebesar $66.366 \times 10^{-2} \mu\text{M}$, dan interaksi ligan-reseptor yang kuat (6 ikatan hidrogen). Oleh karena itu, senyawa luteolin dalam daun kenikir berpotensi sebagai antikanker pada kanker ovarium.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kami ucapkan kepada Universitas Padjadjaran yang telah memfasilitasi beberapa perangkat lunak yang digunakan dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, S.S., Putra, P.P., Antasionasti, I., Rundengan, G., Suoth, E. J. Abdullah, R. P. I., & Abdullah, F. (2022). Analisis sifat fisikokimia, farmakokinetik, dan toksikologi pada pericarpium pala (*Myristica fragrans*) secara artificial intelligence. *Chemistry Progress*, 14(2), 81-92. <https://doi.org/10.35799/cp.14.2.2021.37112>.
- Abotaleb, M., Samuel, S. M., Varghese, E., Varghese, S., Kubatka, P., Liskova, A., & Busselberg, D. (2019). Flavonoids in cancer and apoptosis. *Cancers (Basel)*, 11(1), 28. <https://doi.org/10.3390/cancers11010028>
- ADMETlab 2.0. (2021). ADMET evaluation. Tersedia secara online di <https://admetmesh.scbdd.com/service/evaluation> [Diakses pada 1 September 2024]
- Agistia, D.D., Purnomo, H., Tegar, M., & Nugroho, A.E. (2015). Interaction between active compounds from aegle marmelos correa as anti inflammation agent with Cox-1 and Cox-2 receptor. *Majalah Obat Tradisional*, 18(2), 80-87. <https://doi.org/10.22146/TRADMEDJ.7983>.
- Ahda, M., Jaswir, I., Khatib, A., Ahmed, Q.U., & Mohamad, S.N.A.S. (2023). A Review on *Cosmos caudatus* as a potential medicinal plant based on pharmacognosy, phytochemistry, and

- pharmacological activities. *International Journal of Food Properties*, 26(1), 344-358. <https://doi.org/10.1080/10942912.2022.2158862>
- Ahmad, I., Kuznetsov, A.E., Pirzada, A.S., Alsharif, K.F., Daglia, M., & Khan, H. (2023). Computational pharmacology and computational chemistry of 4-hydroxyisoleucine: physicochemical, pharmacokinetic, and DFT-based approaches. *Frontiers in Chemistry*, 11, 1145974. <https://doi.org/10.3389/fchem.2023.1145974>
- Aldossary, S.A. (2019). Review on pharmacology of cisplatin: clinical use, toxicity and mechanism of resistance of cisplatin. *Biomedical and Pharmacological Journal*, 12(1). <https://bit.ly/2HXEUBG>
- Bao, W., Zhang, Y., Li, S., Fan, Q., Qiu, M., Wang, Y., Li, Y., Ji, X., Yang, Y., Sang, Z., Xu, W., Yang, Y., Wu, S., & Zhu, Y. (2019). miR-107-5p promotes tumor proliferation and invasion by targeting estrogen receptor- α in endometrial carcinoma. *Oncology Reports*, 41(3), 1575-1585. <https://doi.org/10.3892/or.2018.6936>
- Choudhury, C., & Sastry, G.N. (2019). Pharmacophore modelling and screening: concepts, recent developments and applications in rational drug design. In book: Structural Bioinformatics: Applications in Preclinical Drug Discovery Process. https://doi.org/10.1007/978-3-030-05282-9_2
- Coleman, R. L., Spirtos, N. M., Enserro, D., Herzog, T. J., Sabbatini, P., Armstrong, D. K., Kim, J. W., Park, S. Y., Kim, B. G., Nam, J. H., Fujiwara, K., Walker, J. L., Casey, A. C., Alvarez Secord, A., Rubin, S., Chan, J. K., DiSilvestro, P., Davidson, S. A., Cohn, D. E., Tewari, K. S., ... Mannel, R. S. (2019). Secondary surgical cytoreduction for recurrent ovarian cancer. *The New England Journal of Medicine*, 381(20), 1929-1939. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1902626>
- Damia, G., & Broggini, M. (2019). Platinum resistance in ovarian cancer: role of DNA repair. *Cancers (Basel)*, 11(1): 119. <https://doi.org/10.3390/cancers11010119>
- Dewi, N.L.P.L., & Ginarsih, N.M.A. (2021). Molecular docking ellagic acid sebagai agen anti-photoaging secara in silico. *Acta Holistica Pharmacia*, 3(1), 22-30. <https://doi.org/10.62857/ahp.v3i1.34>
- Dilruba, S., & Kalayda, G.V. (2016). Platinum-based drugs: past, present, and future. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 77(6), 1103-1124. <https://doi.org/10.1007/s00280-016-2976-z>
- Fakih, T.M., Arumsari, A., Dewi, M.L., Hazar, N., & Syarza, T.M. (2021). Simulasi penambatan molekul senyawa kompleks besi terhadap protein hemofor sebagai kandidat fotosensitizer pada terapi fotodinamika. *Al-Kimiya*, 8(1): 1-8. <https://doi.org/10.15575/ak.v8i1.8502>
- Faqiha, A.F., Indrawijaya, Y.Y.A., Suryadinata, A., Amiruddin, M., & Mutiah, R. (2022). Potensi senyawa nitazoxanide dan arbidol sebagai antivirus SARS-CoV-2 terhadap reseptor NSP5 (7BQY dan 2GZ7) dan ACE2 (3D0G dan 1R4L). *Journal of Food and Pharmaceutical Sciences*, 10(1), 570-583. <https://doi.org/10.22146/jfps.3393>
- Gong, G., Lin, T., & Yuan, Y. (2020). Integrated analysis of gene expression and DNA methylation profiles in ovarian cancer. *Journal of Ovarian Research*, 13(1), 30. <https://doi.org/10.1186/s13048-020-00632-9>
- Hazlitt, R.A., Min, J., & Zuo, J. (2018). Progress in the development of preventative drugs for cisplatin-induced hearing loss. *Journal of Medicinal Chemistry*, 61(13), 5512-5524. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.7b01653>
- Ho, G.Y., Woodward, N., & Coward, J.I. (2016). Cisplatin versus carboplatin: comparative review of therapeutic management in solid malignancies. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 102, 37-46. <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2016.03.014>
- Hu, X., Li, F., Noor, N., & Ling, D. (2017). Platinum drugs: from Pt(II) compounds, Pt(IV) prodrugs, to Pt nanocrystal/nanoclusters. *Science Bulletin*, 62(8), 589-596. <https://doi.org/10.1016/j.scib.2017.03.008>
- Li, M., Shi, M., Xu, Y., Qiu, J., & Lv, Q. (2021). Histone methyltransferase KMT2D regulates H3K4 methylation and is involved in the pathogenesis of ovarian cancer. *Cell Transplantation*, 30, 9636897211027521.
- Lipinski, C.A., Lombardo, F., Dominy, B.W., & Feeney, P.J. (2001). 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)

- Luo, L., Zhong, A., Wang, Q., & Zheng, T. (2021). Structure-based pharmacophore modeling, virtual screening, molecular docking, ADMET, and molecular dynamics (MD) simulation of potential inhibitors of PD-L1 from the library of marine natural products. *Marine Drugs*, 20(29), 1-18. <https://doi.org/10.3390/md20010029>
- Muchtaridi, M., Syahidah, H.N., Subarnas, A., Yusuf, M., Bryant, S.D., & Langer, T. (2017). Molecular docking and 3D-pharmacophore modeling to study the interactions of chalcone derivatives with estrogen receptor alpha. *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)*, 10(4), 4. <https://doi.org/10.3390/ph10040081>.
- Pebriana, R.B., Lukitaningsih, E., & Khasanah, S.M. (2017). Deklorofilasi ekstrak metanolik daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.), daun mengkudu (*Morinda citrifolia*), dan daun mangga (*Mangifera indica* L.) dengan teknik elektrokoagulasi. *Traditional Medicine Journal*, 22(3), 190-198. <http://dx.doi.org/10.22146/mot.31555>
- Rena, S.R., Nurhidayah, N., & Rustan, R. (2022). Analisis molecular docking senyawa *Garcinia mangostana* L sebagai kandidat anti SARS-CoV-2. *Jurnal Fisika Unand (JFU)*, 11(1), 82-88. <https://doi.org/10.25077/jfu.11.1.82-88.2022>.
- Riset Kesehatan Dasar. (2018). Laporan Nasional Risesdas 2018. Jakarta: Lembaga Penerbitan Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
- Sangande, F., Julianti, E., & Tjahjono, D.H. (2020). Ligand-based pharmacophore modeling, molecular docking, and molecular dynamic studies of dual tyrosine kinase inhibitor of EGFR and VEGFR2. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(20), 7779. <https://doi.org/10.3390/ijms21207779>
- Sieh, W., Köbel, M., Longacre, T. A., Bowtell, D. D., deFazio, A., Goodman, M. T., Høgdall, E., Deen, S., Wentzensen, N., Moysich, K. B., Brenton, J. D., Clarke, B. A., Menon, U., Gilks, C. B., Kim, A., Madore, J., Fereday, S., George, J., Galletta, L., Lurie, G., ... Ramus, S. J. 2014. Hormone-receptor expression and ovarian cancer survival: an ovarian tumor tissue analysis consortium study. *The Lancet Oncology*, 14(9), 853-862. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(13\)70253-5](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(13)70253-5)
- Sundar, R., Jain, M.R., & Valani, D. (2018). Mutagenicity Testing: Regulatory Guidelines and Current Needs from Mutagenicity: Chapter in Assay and Application. Elsevier Inc: Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809252-1.00010-9>
- Wang, K., Zhu, G., Bao, S., & Chen, S. (2019). Long non-coding RNA LINC00511 mediates the effects of esr1 on proliferation and invasion of ovarian cancer through miR-424-5p and miR-370-5p. *Cancer Management and Research*, 11, 10807-10819. <https://doi.org/10.2147/CMAR.S232140>
- Wang, M., Xu, Z., Cai, Q., Deng, Y., Shi, W., Zhou, H., & Li, J. (2022). Isorhamnetin inhibits progression of ovarian cancer by targeting ESR1. *Annals of Translational Medicine*, 10(22), 1216. <https://doi.org/10.21037/atm-22-5064>
- World Cancer Research Fund International. (2024). Ovarian Cancer Statistics. Tersedia secara online di <https://www.wcrf.org/cancer-trends/ovarian-cancer-statistics/> [Diakses pada 3 September 2024].
- Zhu, H., Luo, H., Zhang, W., Shen, Z., Hu, X., & Zhu, X. (2016). Molecular mechanisms of cisplatin resistance in cervical cancer. *Drug Design, Development and Therapy*, 10, 1885-1895. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S106412>
- Zon, A., & Bednarek, I. (2023). Cisplatin in ovarian cancer treatment—known limitations in therapy force new solutions. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(8), 7585. <https://doi.org/10.3390/ijms24087585>