

In Silico Study of Melinjo seeds (*Gnetum gnemon* L.) against Estrogen Receptor Alpha (ER α) in Breast Cancer

Ellisya Maharani Putri¹, Fina Fatimah¹, Syaira Bintang Alghifanie¹, Sabiq Salmandhiya Harits¹, Taufik Muhammad Fakh², Rina Fajri Nuwarda^{2*}

¹Program Sarjana Farmasi, Universitas Padjadjaran, Sumedang, Indonesia

²Departemen Analisis Farmasi dan Kimia Medisinal, Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran, Sumedang, Indonesia.

Info Artikel

Diterima: 07-07-2025

Disetujui: 21-04-2026

Dipublikasikan: 30-05-2026

Keywords:

Gnetum gnemon

Breast cancer

Estrogen alpha

Molecular docking

Abstrak

Kanker payudara merupakan jenis kanker terbanyak kedua di dunia, dengan angka kematian mencapai 666.103 pada 2022. Subtipe kanker payudara yang paling banyak ditemukan adalah yang mengekspresikan reseptor estrogen alfa (ER α). Tamoxifen, sebagai antagonis ER α , telah menjadi terapi lini pertama untuk kanker payudara ER+. Meskipun efektif, toksisitas dan kemungkinan resistensi dalam jangka panjang menjadi hambatan penting dalam penggunaannya. Melinjo (*Gnetum gnemon* L.) diketahui mengandung senyawa bioaktif seperti stilbenoid dan flavonoid yang berpotensi sebagai agen antikanker. Penelitian ini bertujuan untuk menilai potensi dari senyawa bioaktif *Gnetum gnemon* L. sebagai kandidat obat kanker payudara melalui prediksi drug-likeness, prediksi profil farmakokinetik, dan penambatan molekuler terhadap ER α . Hasil penelitian menunjukkan potensi Gnetin C dengan energi ikatan -10.47 kkal/mol dan konstanta inhibisi sebesar 0.021 μ M. Temuan ini menunjukkan potensi Gnetin C untuk dikembangkan menjadi kandidat agen terapi anti kanker payudara

Abstract

Breast cancer is the second most common type of cancer worldwide, with a mortality rate reaching 666,103 deaths in 2022. The most frequently observed subtype of breast cancer is characterized by the expression of estrogen receptor alpha (ER α). Tamoxifen, an ER α antagonist, has long served as a first-line therapy for ER-positive breast cancer. Despite its clinical efficacy, issues related to toxicity and the potential development of resistance during long-term use remain significant limitations to its application. Melinjo (*Gnetum gnemon* L.) has been reported to contain bioactive compounds, such as stilbenoids and flavonoids, which exhibit promising anticancer properties. This study aims to evaluate the potential of bioactive compounds from *Gnetum gnemon* L. as a candidate for breast cancer therapy through drug-likeness prediction, pharmacokinetic profiling, and molecular docking against ER α . The results of this study identified Gnetin C as a promising lead compound, with a binding energy of -10.47 kcal/mol and an inhibition constant of 0.021 μ M. These findings highlight the potential of Gnetin C for further development as a candidate therapeutic agent against breast cancer.

Pendahuluan

Merujuk pada WHO, kanker didefinisikan sebagai kelompok besar penyakit akibat pertumbuhan sel-sel abnormal tidak terkendali, yang tumbuh diluar batas wajar, hingga dapat menyebar ke bagian tubuh lainnya (WHO, 2025). Kanker berdampak pada penurunan kualitas hidup yang signifikan bagi penderitanya. Dari 768 penderita kanker, didapati sebanyak 623 pasien (82,3%) memiliki kualitas hidup dibawah rata-rata. (Nayak, *et al.*, 2017)

Menurut data dari Global Cancer Observatory (GCO) tahun 2022, kanker payudara merupakan jenis kanker terbanyak ke-2 di seluruh dunia dengan 2.296.840 kasus aktif. Kanker payudara termasuk ke dalam peringkat ke-4 kanker dengan angka kematian tertinggi, dengan jumlah 666.103 kematian karena kanker payudara (GCO, 2022). Angka mortalitas dan morbiditas kanker payudara diperkirakan akan terus meningkat dibandingkan data GCO 2022. Pada kawasan Asia tenggara, kasus baru diperkirakan meningkat sebanyak 49% pada tahun 2050. Sementara angka kematian diperkirakan meningkat sebanyak 73%. (Liao, 2025)

Reseptor estrogen menjadi penanda biologis penting pada kanker payudara, sekitar 75-78% kanker payudara invasif sensitif terhadap hormon estrogen (ER+). Angka ini diproyeksikan akan meningkat sebesar 0,75% per tahun (Miziak, *et al.*, 2023; Wei, 2023). Di dalam tubuh manusia, terdapat reseptor estrogen alfa (ER α) dan reseptor estrogen beta (ER β). Keduanya diekspresikan berbeda pada tubuh. ER α lebih banyak terdapat pada endometrium, ovarium. Sementara, ER β lebih banyak diekspresikan pada sel ginjal, otak, jantung, tulang. Dereglasi ekspresi dan fungsi ER α berhubungan erat dengan karsinogenesis pada sel epitel kanker ovarium, uterus, dan payudara. Hal ini menjadikan ER α sebagai salah satu target obat klinis utama dalam kanker payudara (Miziak, *et al.*, 2023).

Pengobatan kanker masih menjadi tantangan besar dalam dunia medis karena kompleksitas patofisiologi tumor, resistensi terhadap terapi, serta risiko munculnya kembali kanker menjadi hal yang perlu diperhatikan. Pendekatan konvensional seperti kemoterapi, radioterapi, dan imunoterapi memiliki berbagai keterbatasan, diantaranya efek samping serius yang ditimbulkan (Hongxia, *et al.*, 2025). Tamoxifen merupakan antagonis ER α yang biasa digunakan pada kanker payudara dengan reseptor estrogen positif. Kemampuan Tamoxifen dalam memodulasi mutasi pada sel tumor menjadikannya sebagai kandidat menjanjikan pada terapi kanker. Dalam hal ini, terdapat tantangan dari segi kelarutan, ketidakstabilan, serta pelepasan yang belum sempurna saat ditujukan pada sel tumor. Selain itu, toksisitas Tamoxifen menjadi kekhawatiran utama dalam terapi kanker payudara. (Ghayoumipour & Ghafouri, 2025)

Melinjo (*Gnetum gnemon* L.) merupakan tanaman obat asal Asia Tenggara yang dapat ditemukan di Indonesia, Malaysia, Filipina, dan Fiji. Melinjo memiliki aktivitas antimikroba, anti-inflamasi, antioksidan, serta dapat melindungi DNA dari kerusakan. Khasiat biji melinjo sebagai antitumor dan antikanker ditemukan banyak dari polifenol, termasuk dimer resveratrol, diantaranya gnetin C, gnomonoside A dan D, serta trans-resveratrol. (Anisong, *et al.*, 2022)

Dalam studi komputasi, kandidat obat potensial dapat diidentifikasi melalui kemiripannya terhadap obat-obat standar (*drug-likeness*), misalnya dengan *Lipinski's Rule of Five*. Prediksi ADMET dilakukan untuk mengidentifikasi karakteristik farmakokinetik dan toksisitas dari bahan alam. (Rai, *et al.*, 2023)

Fitokimia mempunyai sejarah panjang dalam penemuan obat. Perkembangan teknologi telah memudahkan penemuan *lead compounds* dalam bahan alam. Salah satu pendekatan komputasi untuk mengidentifikasi senyawa potensial pada suatu bahan alam adalah dengan penambatan molekuler (Chihomvu, *et al.*, 2024). Penambatan molekuler adalah teknik komputasi untuk memprediksi interaksi antara molekul dan protein pada tingkat atom. Studi penambatan molekuler menjadi salah satu pendekatan penting dalam meniru interaksi antara ligan dan protein target, sebagaimana yang terjadi pada uji *in vitro*, namun dilakukan melalui simulasi komputer. (Agu, *et al.*, 2023)

Efikasi dari ekstrak biji melinjo sudah pernah diteliti sebelumnya secara *in vitro* pada model tikus dengan tumor kolon-26. Pemberian ekstrak biji melinjo secara oral dengan dosis 50 dan 100 mg/hari mampu menghambat pertumbuhan tumor yang signifikan (Anisong, *et al.*, 2022). Penelitian lainnya menemukan adanya efek sitotoksik pada kanker pankreas (PANC-1) dan kanker kolon (HT-29). Fraksi etil asetat dari biji melinjo juga memiliki efek sitotoksik terhadap MCF-7 (IC 50 = 94,6 μ g/mL). (Asep, *et al.*, 2024)

Maka dari itu, penting dilakukan prediksi *drug-likeness*, prediksi ADMET, serta penambatan molekuler untuk menentukan senyawa bioaktif Biji Melinjo (*Gnetum gnemon* L.) yang potensial sebagai anti kanker payudara.

Metode

Perangkat Keras

Laptop Acer Swift 3 dengan spesifikasi 12th Gen Intel(R) Core(TM) i7-12700H (RAM 16 GB, prosesor 64-bit) dengan sistem operasi Windows.

Perangkat Lunak

LigandScout 4.4.5, BIOVIA Discovery Studio Visualizer 2021, Chem3D, AutoDock 4.2.6, AutoDock Tools 1.5.7., Notepad, serta situs web yang terdiri dari KNApSACK Family (https://www.knapsackfamily.com/KNApSACK_Family/), RSCB Protein Data Bank (PDB) (<https://www.rcsb.org/>), DUDE (<https://dude.docking.org/>), PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>), SwissADME (<http://www.swissadme.ch/>) serta Pre-ADMET (<https://preadmet.webservice.bmdrc.org/>).

Bahan

Reseptor estrogen alfa ($ER\alpha$) dengan resolusi 1,90Å didapatkan dari situs RSCB PDB dengan kode PDB 1SJ0. Sebanyak 38 senyawa bioaktif biji melinjo, 20 diantaranya didapatkan datanya dari situs KNApSACK Family dengan kata kunci "*Gnetum gnemon*", sementara 18 lainnya diambil berdasarkan literatur dari Chatatikun, *et al.*, 2024. Struktur 2D dan 3D dari PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) dengan format (.sdf).

Data senyawa aktif terhadap reseptor estrogen receptor alpha ($ESR\alpha$) diperoleh dari situs *Directory of Useful Decoys: Enhanced* (DUDE) (<https://dude.docking.org/>). Senyawa tersebut diunduh dalam format .mol2 dan digunakan sebagai referensi dalam proses penapisan farmakofor.

Prosedur Prediksi Drug-likeness

Prediksi *Lipinski's Rule of Five* (RO5) dilakukan dengan menggunakan situs SwissADME (<http://www.swissadme.ch/>). Parameter yang digunakan dalam prediksi RO5 meliputi nilai log P, bobot molekul, jumlah akseptor ikatan hidrogen, dan donor ikatan hidrogen. Hasil analisis digunakan untuk menentukan apakah senyawa yang diuji memenuhi kriteria Lipinski RO5. Selain itu, profil ADMET senyawa juga diprediksi melalui situs Pre-ADMET dengan memilih salah satu fitur, seperti *Drug-likeness Prediction*, *ADME Prediction*, maupun *Toxicity Prediction*.

Prosedur Prediksi ADMET

Prediksi sifat ADME-Toks dilakukan dengan memasukkan struktur senyawa ke dalam situs PreADMET. Proses pengujian mencakup analisis ADME (Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, dan Ekskresi) serta toksisitas, yang masing-masing dilakukan secara terpisah. Dari hasil prediksi ADME, diperoleh data persentase penyerapan di usus manusia (%HIA), permeabilitas terhadap sel Caco-2 (Cancer coli-2), kemampuan senyawa melintasi sawar darah otak (BBB), serta nilai ikatan protein plasma binding (PPB). Uji toksisitas mencakup penilaian potensi sifat mutagen berdasarkan uji mutagenisitas dan sifat karsinogen berdasarkan hasil uji karsinogenitas yang dilakukan pada model hewan seperti mencit dan tikus. Seluruh analisis ini dapat dilakukan melalui situs Pre-ADMET di <http://www.swissadme.ch/>.

Prosedur Penapisan Farmakofor

Sebanyak 38 senyawa bioaktif biji melinjo didapatkan struktur dua dimensi dan tiga dimensinya dari PubChem dengan format (.sdf). Reseptor Estrogen Alpha yang digunakan adalah $ESR\alpha$ pada Homo sapiens yang membentuk kompleks dengan E4D600 ligand (PDB:1sj0), didapatkan dari RCSB PDB (<https://www.rcsb.org/structure/1SJ0>).

Penapisan farmakofor dilakukan dengan menyiapkan data senyawa-senyawa aktif terhadap reseptor $ESR\alpha$ dari situs DUDE (<https://dude.docking.org/>) dengan ekstensi .mol2. File yang telah diunduh dibuka pada aplikasi LigandScout. Model farmakofor divalidasi dengan melihat area under curve (AUC) serta hits pada kurva receiver operator characteristic (ROC). Model terbaik disimpan dengan ekstensi .pmz.

Prosedur Validasi Metode Docking

Simulasi penambatan molekul dilakukan pada reseptor estrogen alfa (PDB ID: 1SJ0) yang sebelumnya telah dipreparasi. Preparasi dilakukan menggunakan BIOVIA Discovery Studio untuk memisahkan reseptor dan ligan alami. Pada AutoDock 4.2.6, dilakukan penghapusan molekul air pada reseptor. Pada bagian polar reseptor, ditambahkan atom hidrogen dan muatan Kollman. Penambatan molekul dilakukan dengan jumlah *GA runs* 100.

Validasi metode *docking* dilakukan dengan *re-docking* ligan alami kepada $ER\alpha$ menggunakan AutoDock 4.2.6. Preparasi ligan alami dilakukan dengan AutoDock 4.2.6. Setelah didapatkan reference RMSD $\leq 2\text{\AA}$, *grid box* yang telah dibuat dapat diterapkan pada seluruh senyawa uji, dengan parameter sebagai berikut: *grid box* (x=40; y=40; z=40), koordinat *grid* (x =30.884; y= -1.067; z = 23.464) dan jarak 0.375 Å.

Penambatan Molekuler

Penambatan molekul pada senyawa uji dilakukan setelah minimisasi energi senyawa uji dengan aplikasi Chem3D Pro 12.0. Minimisasi energi dilakukan dengan kalkulasi MM2. Senyawa uji dalam bentuk energi paling rendah disimpan dalam format .pdb untuk selanjutnya dilakukan preparasi yang sama seperti yang dilakukan pada ligan alami. Penambatan molekul dilakukan dengan tahapan yang sama seperti saat *re-docking* ligan alami pada reseptor.

Analisis hasil *docking* dilakukan dengan NotePad untuk mengetahui energi ikatan dan konstanta inhibisi dari senyawa uji. Sementara visualisasi interaksi 2D dan 3D dilakukan pada BIOVIA Discovery Studio.

Hasil dan Pembahasan

Lipinski's Rule of Five (RO5), yang juga dikenal sebagai hukum Lipinski, merupakan parameter yang digunakan untuk mengevaluasi sifat fisikokimia suatu senyawa, terutama dalam menilai kemampuan senyawa tersebut untuk melewati membran secara pasif melalui difusi. Aturan ini juga berperan penting dalam menilai kelayakan suatu senyawa sebagai kandidat obat yang diberikan secara oral. Prediksi sifat fisikokimia ini bertujuan untuk mengantisipasi kemungkinan kegagalan senyawa pada tahap pengembangan obat. (Ghose, A. K., *et al.* 2016).

Tabel 1. Prediksi *Lipinski Rule of Five* dari Senyawa Aktif *Gnetum gnemon* L.

No.	Nama senyawa	Berat Molekul (<500Da)	LogP (<5)	Ikatan Hidrogen		Jumlah Pelanggaran
				Donor (<5)	Akseptor (<10)	
1.	Swertiajaponin	462.402	0.1003	7	11	2, Tidak
2.	(+)-Lirioresinol B	418.436	3.2074	2	8	1, Memenuhi
3.	(E)-Isorhapontin	420.409	0.4555	6	9	1, Memenuhi
4.	Resveratrol	228.242	2.9738	3	3	0, Memenuhi
5.	(-)-epsilon-Viniferin	454.469	5.6506	5	6	1, Memenuhi
6.	Isoswertiajaponin	463.405	0.1003	7	11	2, Tidak
7.	Gnetifolin E	420.409	0.4555	6	9	1, Memenuhi
8.	Gnetifolin K	582,549	-2.0714	9	14	3, Tidak
9.	Gnetol	244.242	2.6794	4	4	0, Memenuhi
10.	Isorhapontigenin	258.268	2.9824	3	4	0, Memenuhi
11.	Gnemonol A	696.70	4.94	8	10	4, Tidak
12.	Gnemonol B	906.921	11.0042	9	12	4, Tidak
13.	Gnemonol C	922.92	6.87	10	13	4, Tidak
14.	Gnemonol D	696.70	5.27	8	10	4, Tidak
15.	Gnemonol E	696.70	5.30	8	10	4, Tidak
16.	Gnemonol F	696.70	4.94	8	10	4, Tidak
17.	Gnemonol K	680.70	5.65	7	9	3, Tidak
18.	Gnemonol L	680.70	5.64	7	9	3, Tidak
19.	Gnemonol M	514.52	3.65	6	8	1, Memenuhi
20.	Gnemonoside A	778.75	0.61	11	16	3, Tidak
21.	Gnemonoside B	778.75	0.60	11	15	3, Tidak
22.	Gnemonoside C	616.61	2.35	8	11	3, Tidak
23.	Gnemonoside D	616.61	2.45	8	11	3, Tidak
24.	Gnemonoside E	778.75	0.62	11	16	3, Tidak
25.	Gnemonoside F	-	-	-	-	-
26.	Gnemonoside K	1167.13	0.37	16	24	3, Tidak
27.	Latifolol	696.70	5.36	8	10	4, Tidak
28.	Pinostilbenosid	404.409	0.7499	5	8	0, Memenuhi
29.	Pterostilben	256.295	3.5798	1	3	0, Memenuhi
30.	Tetrametoksistilben	300.35	3.69	0	4	0, Memenuhi
31.	2,3-dihidroksipropil ikosanoat	386.608	5.9245	2	4	1, Memenuhi
32.	Asam oleat	282.461	6.1085	1	2	1, Memenuhi
33.	Asam ursolat	456.699	7.0895	2	3	1, Memenuhi
34.	(-)-Viniferin	454.47	4.05	5	6	1, Memenuhi
35.	Gnetin A	454.47	3.29	4	6	0, Memenuhi
36.	Gnetin C	454.47	4.13	5	6	1, Memenuhi
37.	Gnetin D	470.468	3.65	6	7	1, Memenuhi
38.	Gnetin E	680.70	5.65	7	9	3, Tidak

Sebuah senyawa dianggap memenuhi kriteria formulasi sediaan oral apabila tidak melanggar lebih dari satu ketentuan yang tercantum dalam hukum Lipinski (Ghose, A. K., *et al.* 2016). Penilaian dilakukan mengacu pada parameter aturan Lipinski, meliputi berat molekul di bawah 500 dalton, jumlah donor ikatan hidrogen tidak lebih dari 5, jumlah akseptor ikatan hidrogen tidak lebih dari 10, Log P tidak lebih dari 5, serta nilai refraktivitas molar antara 40-130. (Veber, *et al.* 2017).

Molekul dengan massa lebih dari 500 dalton cenderung mengalami hambatan dalam permeabilitas, baik pada saluran pencernaan maupun sistem saraf pusat. Sementara itu, nilai log P di bawah lima menunjukkan bahwa senyawa memiliki kemampuan untuk melewati membran sel yang bersifat lipofilik. Selain itu, jumlah donor dan akseptor ikatan hidrogen juga dibatasi karena jumlah yang berlebihan dapat mengurangi kemampuan senyawa untuk melintasi membran sel, akibat peningkatan kelarutan dalam air dan pembentukan ikatan hidrogen yang kuat. (Ma'aruf, dkk., 2025)

Berdasarkan hasil skrining menggunakan hukum *Lipinski's Rule of Five* terhadap senyawa aktif biji melinjo menunjukkan bahwa hanya 18 dari total 38 senyawa yang sesuai dengan parameter tersebut. Senyawa-senyawa yang memenuhi kriteria RO5 berpotensi tinggi sebagai obat yang dapat diberikan secara oral karena memiliki sifat fisikokimia yang mendukung untuk diformulasikan sebagai obat oral dan memiliki profil farmakokinetik yang baik dalam konteks difusi pasif (Ahmad., *et al.*, 2023). Sedangkan senyawa-senyawa yang tidak memenuhi Kriteria RO5 memiliki kemungkinan rendah untuk diserap secara efisien melalui jalur oral, sehingga formulasi atau rute pemberian lain perlu dipertimbangkan.

Tabel 2. Hasil Prediksi Profil ADMET dari Senyawa Aktif *Gnetum gnemon* L.

Nama Senyawa	Absorpsi		Distribusi		Toksisitas		
	HIA (%)	Caco2 (nm/s)	PPB (%)	BBB	Mutagen	Karsinogen	
						Mouse	Rat
Swertiajaponin	27.717859	4.22833	54.043403	0.0336969	Non-mutagen	+	-
(+)-Lirioresinol B	94.141867	39.3087	74.530437	0.0215518	Mutagen	-	+
(E)-Isorhapontin	57.201967	4.38715	81.240537	0.0510032	Mutagen	+	-
Resveratrol	88.479404	5.19172	100.000000	1.73812	Mutagen	-	-
(-)-epsilon-Viniferin	89.635612	10.8324	100.000000	2.61103	Non-mutagen	-	+
Isoswertiajaponin	27.720040	3.17676	53.893420	0.0354027	Non-mutagen	+	-
Gnetifolin E	57.210451	8.31326	80.869469	0.0533577	Mutagen	+	-
Gnetifolin K	9.780715	4.96292	42.909362	0.0307442	Non-mutagen	+	-
Gnetol	9.780715	4.96292	42.909362	0.0307442	Non-mutagen	-	+
Isorhapontigenin	88.446064	4.89208	100.000000	0.560014	Mutagen	+	-
Gnemonol A	86.170786	18.6261	100.000000	2.06761*	Non-mutagen	-	+
Gnemonol B	90.662963	13.3438	100.000000	3.59413*	Non-mutagen	-	+
Gnemonol C	87.742565	15.2474	100.000000	2.1853*	Non-mutagen	-	+
Gnemonol D	86.818227	16.4089	100.000000	1.57368*	Non-mutagen	-	+
Gnemonol E	86.818386	16.1787	100.000000	1.53375*	Non-mutagen	-	+
Gnemonol F	86.170132	19.0813	100.000000	1.6791*	Non-mutagen	-	+
Gnemonol K	90.272371	13.3376	100.000000	2.30807*	Non-mutagen	-	+
Gnemonol L	90.272371	13.3376	100.000000	2.30807*	Non-mutagen	-	+
Gnemonol M	84.131931	18.2574	100.000000	0.229139	Mutagen	-	+
Gnemonoside A	19.900884	8.93819	100.000000	0.0329954*	Non-mutagen	+	-
Gnemonoside B	19.900884	8.93819	100.000000	0.0329954*	Non-mutagen	+	-
Gnemonoside C	68.921918	11.8391	100.000000	0.0734519	Non-mutagen	+	-
Gnemonoside D	68.921918	9.27798	100.000000	0.124458	Non-mutagen	+	-
Gnemonoside E	19.905100	8.40151	100.000000	0.0331808*	Non-mutagen	+	-
Gnemonoside K	3.519247	11.5051	100.000000	0.0282538*	Non-mutagen	+	-
Latifolol	86.818386	16.1787	100.000000	1.53305*	Non-mutagen	-	+
Pinostilbenosid	75.427844	3.03382	83.852041	0.0839268	Non-mutagen	+	-
Pterostilben	95.740023	45.9198	100.000000	1.3224	Mutagen	+	+
Tetrametoksilben	98.356508	58.0621	93.221659	0.490767	Mutagen	+	+
2,3-dihidroksipropil ikosanoat	92.742258	40.5655	100.000000	9.68619	Non-mutagen	-	-
Asam oleat	98.436935	28.1906	100.000000	7.48966	Mutagen	+	+
Asam ursolat	95.996396	21.8616	100.000000	8.00777	Non-mutagen	+	+
(-)-Viniferin	89.635612	10.8324	100.000000	2.61103	Non-mutagen	-	+
Gnetin A	91.093668	20.8388	100.000000	0.839549	Mutagen	+	-
Gnetin C	89.634725	11.7151	100.000000	2.63791	Non-mutagen	-	+

Nama Senyawa	Absorpsi		Distribusi		Toksistas		
	HIA (%)	Caco2 (nm/s)	PPB (%)	BBB	Mutagen	Karsinogen	
						Mouse	Rat
Gnetin D	85.113210	17.5974	100.000000	1.51218	Non-mutagen	-	+
Gnetin E	90.271779	13.0941	100.000000	2.573068	Non-mutagen	-	+

Selanjutnya, dilakukan prediksi terhadap sifat fisikokimia senyawa guna memperoleh gambaran mengenai aspek absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi, serta potensi toksisitasnya (Tabel 2). Data ini dimanfaatkan sebagai dasar untuk mengevaluasi profil keamanan dan efektivitas senyawa secara *in silico* (Ferreira & Andricopulo, 2019). Dalam penilaian aspek absorpsi pada parameter ADME-Toks, indikator yang umum digunakan meliputi *Human Intestinal Absorption* (HIA) dan permeabilitas terhadap sel *Human Colon Adenocarcinoma* (Caco-2). Parameter HIA memprediksi sejauh mana senyawa dapat diserap melalui saluran cerna manusia. Hasil %HIA dapat dikategorikan menjadi tiga, yaitu rentang 0-20% yang memiliki arti bahwa senyawa dapat diserap dengan buruk, rentang 20-70% yaitu senyawa dapat diserap dengan sedang, serta 70-100% yaitu senyawa dapat diserap dengan baik. Semakin tinggi nilai %HIA, maka semakin mudah senyawa untuk terabsorpsi (Ranjith & Ravikumar, 2019). Berdasarkan hasil prediksi, ditemukan bahwa ada 6 senyawa ini memiliki kemampuan absorpsi yang buruk, 6 sedang dan 25 senyawa memiliki kemampuan absorpsi yang baik di usus manusia, dengan senyawa asam oleat menunjukkan nilai %HIA tertinggi.

Caco-2 merupakan parameter prediktif yang digunakan untuk menilai kemampuan permeabilitas atau kemampuan suatu obat untuk dapat menembus sel epitel pada usus besar yang berasal dari adenokarsinoma. Menurut Prasetiawati (2023), nilai Caco-2 diklasifikasikan ke dalam tiga kategori, yaitu permeabilitas rendah (nilai < 4), sedang (4-70), dan tinggi (nilai > 70). Berdasarkan hasil prediksi yang diperoleh, tiga senyawa menunjukkan kemampuan permeabilitas yang tergolong rendah, sedangkan sisanya berada dalam kategori sedang. Diantara seluruh senyawa yang dianalisis, senyawa pterostilben menunjukkan nilai Caco-2 tertinggi yang mengindikasikan potensi permeabilitas terbaik melalui sel epitel usus besar.

Sementara itu, dalam evaluasi kemampuan distribusi senyawa, parameter yang digunakan meliputi *Plasma Protein Binding* (PPB) dan *Blood Brain Barrier* (BBB). Persentase PPB (%PPB) mempresentasikan sejauh mana suatu senyawa dapat berikatan dengan protein dalam plasma darah, yang berperan penting dalam proses distribusi sistemik. Nilai %PPB lebih dari 90% menandakan ikatan protein dalam darah sangat kuat (Rahmawaty dkk., 2022). Senyawa obat dianggap memiliki distribusi yang baik dalam darah jika kemampuan ikatannya dengan protein plasma sangat kuat. Hasil prediksi menunjukkan bahwa sebanyak 29 senyawa memiliki afinitas ikatan yang tinggi terhadap target, sedangkan 8 senyawa lainnya menunjukkan afinitas ikatan yang relatif rendah.

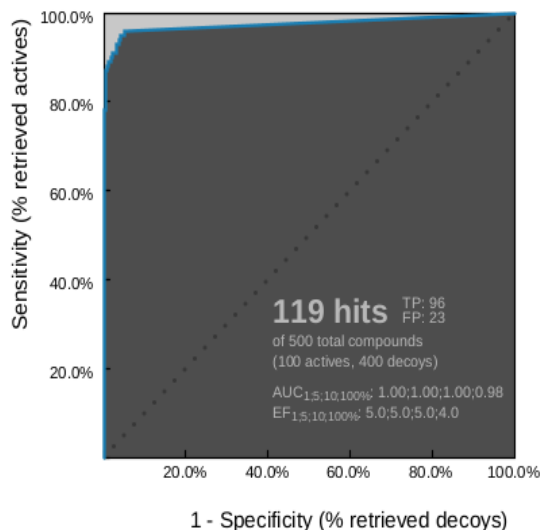
Blood Brain Barrier (BBB) (BBB) merupakan salah satu parameter penting dalam mengevaluasi potensi suatu senyawa untuk melintasi sawar darah otak. Senyawa dengan nilai BBB lebih dari 2 dikategorikan memiliki kemampuan penetrasi yang tinggi terhadap sistem saraf pusat (Az-Zahra *et al.*, 2022). Berdasarkan hasil prediksi, teridentifikasi sebanyak 12 senyawa yang menunjukkan nilai BBB di atas ambang tersebut, dengan nilai tertinggi ditunjukkan oleh senyawa 2,3-dihidroksipropil ikosanoat. Sebaliknya, senyawa yang memiliki nilai BBB kurang dari 0,1 diklasifikasikan sebagai senyawa dengan kemampuan penetrasi yang rendah. Dalam studi ini, sebanyak 13 senyawa termasuk dalam kategori tersebut. Penting untuk diperhatikan bahwa senyawa yang dirancang untuk memberikan efek pada sistem saraf pusat seharusnya memiliki kemampuan untuk menembus sawar darah otak. Sebaliknya, senyawa yang tidak ditujukan untuk memengaruhi sistem saraf pusat idealnya tidak melewati penghalang tersebut guna meminimalisir risiko timbulnya efek samping yang tidak diinginkan.

Untuk melihat toksistas senyawa, dilihat parameter berupa mutagen dan karsinogen dari senyawa. Mutagen menunjukkan apakah senyawa akan menyebabkan mutasi pada sel atau tidak saat dikonsumsi, sedangkan karsinogen menunjukkan apakah senyawa bersifat karsinogenik atau tidak. Berdasarkan data pada **Tabel 2.**, hasil yang didapatkan sangat bervariasi tetapi hanya pterostilben dan asam ursolat yang menunjukkan positif terhadap karsinogen. Tetapi ada perbedaan dimana pterostilben menyebabkan mutasi pada sel sedangkan pada asam ursolat tidak menyebabkan mutasi pada sel.

Farmakofor merepresentasikan susunan fitur kimia dan spasial suatu senyawa yang diperlukan untuk berinteraksi secara spesifik dengan target biologis tertentu. Setelah diperoleh model farmakofor, validasi model merupakan langkah yang penting sebelum menerapkan suatu model. Hal ini dapat dilakukan dengan menentukan *goodness of fit list*, kurva ROC, metode Fischer, atau analisis statistik lainnya. (Giordano, *et al.*, 2022)

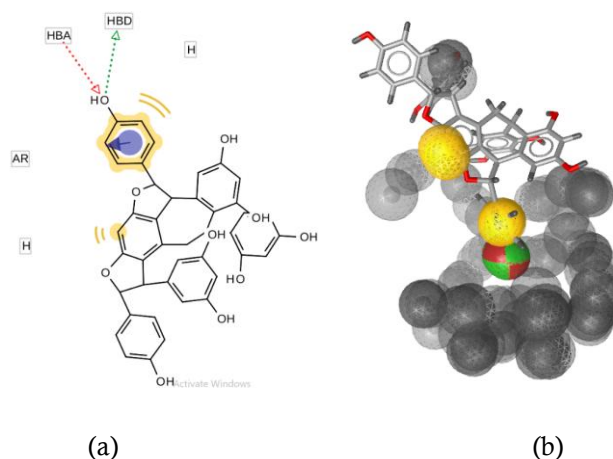
Dalam menentukan hasil skrining yang terbaik, kita dapat melihat nilai AUC. AUC menunjukkan keakuratan model menyaring *active* dari *decoy*. Nilai AUC berkisar antara 0-1. Ketika nilai AUC > 0.5 dan semakin mendekati angka 1, berarti semakin akurat diagnostik yang dilakukan oleh model. Ketika AUC < 0.5, maka model tidak sesuai dengan keadaan sebenarnya. (Luo, *et al.*, 2022)

Pada penelitian ini, telah dibuat 10 model farmakofor untuk dilakukan validasi. Hasil terbaik dari validasi *pharmacophore modelling* yakni model 1 dengan AUC 100% (0,98) dengan total 119 *hits*. Setelah didapatkan model ini, dilakukan skrining aktivitas senyawa uji terhadap reseptor estrogen alfa dalam bentuk *pharmacophore fit score*.



Gambar 1. Hasil Terbaik Skrining Farmakofor

Pada kurva *Receiver Operating Characteristic* (ROC), parameter seperti area di bawah kurva (AUC) dan *enrichment factor* (EF 1%), digunakan untuk menilai sensitivitas, spesifisitas, dan akurasi suatu model farmakofor. Kualitas model farmakofor ini dapat dijabarkan melalui empat parameter utama, yaitu sensitivitas (kemampuan dalam mengidentifikasi senyawa aktif), spesifisitas (kemampuan dalam menyingkirkan senyawa *decoy*), rendemen senyawa aktif (rasio antara jumlah *true positive* terhadap *hits*), serta faktor pengayaan (yang menunjukkan hubungan antara jumlah senyawa aktif yang terdeteksi dengan keseluruhan komposisi data skrining) (Giordano *et al.*, 2022). Apabila kurva ROC tampak tajam dan mendatar pada bagian atas, maka model tersebut mampu menempatkan senyawa aktif pada posisi peringkat yang lebih tinggi dibandingkan dengan senyawa tidak aktif (Moussa *et al.*, 2021). Pada **Gambar 1.**, dapat dilihat kurva yang didapatkan tampak tajam, menunjukkan model farmakofor memiliki kemampuan membedakan senyawa aktif dan tidak aktif dengan baik.

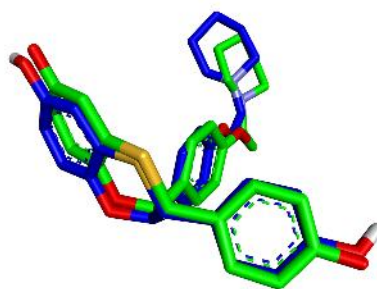


Gambar 2. Pemodelan Farmakofor (a) 2D dan (b) 3D. Dua bola kuning menunjukkan interaksi hidrofobik, bola merah menunjukkan akseptor ikatan hidrogen, bola hijau menunjukkan donor ikatan hidrogen.

Farmakofor adalah deskripsi abstrak mengenai atom-atom, gugus, gugus bermuatan, dan interaksi spasialnya yang penting dalam menghasilkan aktivitas biologis dari suatu senyawa. Pemodelan farmakofor menggambarkan penataan spasial dan karakteristik elektronik untuk mencapai kombinasi terbaik dari ligan dan makromolekul (Zhao, *et al.*, 2021). Pemodelan farmakofor didasarkan pada teori bahwa adanya kesamaan dalam fungsi kimia umum dan pengaturan spasial akan berdampak pada aktivitas biologis yang sama. Fitur farmakofor yang paling penting diantaranya akseptor ikatan hidrogen (HBA), donor ikatan hidrogen (HBD), area hidrofobik (H), gugus yang dapat terionisasi, gugus aromatik, dan area koordinasi logam. (Giordano, *et al.*, 2020)

Berdasarkan hasil pemodelan pada **Gambar 2.**, fitur kunci dari model farmakofor adalah interaksi hidrofobik, akseptor ikatan hidrogen, dan donor ikatan hidrogen. Hal ini berarti *lead compound* harus dapat berinteraksi secara spesifik dan mampu berkomplemen dengan residu pada sisi aktif reseptor.

Penambatan molekul merupakan metode analisis konformasi dan orientasi suatu molekul terhadap *binding site* target. Untuk mendapatkan hasil analisis penambatan molekuler yang akurat, perlu dilakukan validasi metode *docking*.



Gambar 3. *Overlay* ligan alami sebelum (hijau) dan setelah penambatan molekul (biru).

Kemiripan posisi ligan alami sebelum dan sesudah *docking* diperlihatkan melalui *overlay* seperti yang terlihat pada **Gambar 3**. Posisi yang berhimpit menunjukkan bahwa struktur dan sisi aktif dari ligan alami setelah melalui proses *docking* tetap serupa. Selain membuat *overlay*, parameter lain yang perlu dilihat adalah RMSD atau standar deviasi kuadrat rata-rata antara atom-atom yang bersesuaian dari posisi *docking* ligan dan ikatannya secara eksperimental. RMSD dikatakan dapat diterima apabila $>2 \text{ \AA}$ (Shamsian, *et al.*, 2024). RMSD yang didapatkan adalah $0.802 \text{ \AA}$, sehingga parameter *docking* dapat digunakan.

Tabel 3. Hasil Prediksi Sifat Fisikokimia Senyawa Bioaktif Biji Melinjo

Nama senyawa	Energi ikatan (Kkal/mol)	KI (nM)	Interaksi dengan asam amino		
			Ikatan Hidrogen	Ikatan Van der waals	Ikatan lainnya
Ligan alami ((2s,3r)-2-(4-(2-(piperidin-1-yl)ethoxy) phenyl)-2,3-dihydro-3-(4-hydroxyphenyl) benzo[b][1,4]oxathiin-6-ol)	-13.92	0,0000626	Konvensional HIS 524; GLY 521; GLU 353	-	Alkil, Pi-Alkil ILE 424; LEU 346; LEU 387; LEU 391; TRP 383; LEU 354; ALA 350 Pi-Sigma LEU 525 Pi-Sulfur MET 421; PHE 404
Tamoxifen (Senyawa standar)	-10.79	0.01228	Karbon THR 347; CYS 530	-	Alkil, Pi-Alkil ILE 424; MET 421; ALA 350;

Nama senyawa	Energi ikatan (Kkal/mol)	KI (nM)	Interaksi dengan asam amino		
			Ikatan Hidrogen	Ikatan Van der waals	Ikatan lainnya
Swertiajaponin	-6.15	30.89	Konvensional ASP 351; CYS 530	-	LEU 346; LEU 525; LEU 391; MET 388; PHE 404 Amide-Pi Stacked LEU 349 Alkil, Pi-Alkil LEU 354; LEU 387; TRP 383; ALA 350 Pi-Sigma LEU 525
(+)-Lirioresinol B	-7.81	1.87	Karbon ALA 350; ASP 351; CYS 530; GLY 521	-	Alkil, Pi-Alkil LEU 387; TRP 383; LEU 354; LEU 346; PHE 404; LEU 525; MET 343; MET 421; LEU 428; PHE 425; HIS 524; ILE 424
(E)-Isorhapontin	-8.96	2.75	Konvensional ASP 351; GLU 353; ARG 394 Karbon LEU 346	-	Alkil, Pi-Alkil LEU 525; ALA 350; LEU 391; LEU 349 Pi-Sigma LEU 387
Resveratrol	-8.17	1.03	Konvensional LEU 346; GLU 353; HIS 524; GLY 521	-	Alkil, Pi-Alkil ALA 350; PHE 404; LEU 387 Pi-Sigma LEU 525 Pi-Sulfur MET 421
(-)-epsilon-Viniferin	-10.26	0.03003	Konvensional LEU 387; GLU 353; LEU 346; GLY 521; ASP 351	-	Pi-Alkil CYS 530; LEU 384 Pi-Sigma LEU 391; ALA 350; LEU 525 Pi-Sulfur MET 388
Isoswertiajaponin	-7.43	3.59	Konvensional ASP 351; CYS 530	-	Alkil, Pi-Alkil LEU 354; LEU 387; ALA 350; TRP 383 Pi-Sigma LEU 525
Gnetifolin E	-8.83	0.33728	Konvensional ASP 351; LEU 346; LEU 387; GLU 353	-	Alkil, Pi-Alkil MET 343; LEU 525; CYS 530; ALA 350 Pi-Sigma LEU 384
Gnetifolin K	-9.59	0.09274	Konvensional GLU 353; MET 421; LEU 346; TYR 526; ASP 351 Karbon LEU 387	-	Alkil, Pi-Alkil CYS 530; LEU 525; ALA 350; MET 343 Pi-Sigma THR 347
Gnetol	-7.07	6.62	Konvensional GLU 353; LEU 346	-	Pi-Alkil MET 421; ILE 424; ALA 350; LEU 391 Pi-Pi T-shaped PHE 404
Isorhapontigenin	-8.31	0.80633	Konvensional LEU 346; HIS 524; GLU 353; GLY 521	-	Pi-Alkil MET 421; ILE 424; ALA 350; LEU 391 Pi-Pi T-shaped PHE 404

Nama senyawa	Energi ikatan (Kkal/mol)	KI (nM)	Interaksi dengan asam amino		
			Ikatan Hidrogen	Ikatan Van der waals	Ikatan lainnya
Gnemonol A	+19.36	-	Konvensional TYR 526	-	Pi-Alkil LEU 346; LEU 525; MET 343; ALA 350; LEU 387; LEU 354; LEU 535 Pi-Pi Stacked TRP 383 Pi-Sulfur ASP 351 Pi-Sigma LEU 384 Unfavorable Bump CYS 530; TYR 347
Gnemonol B	+327.80	-	Konvensional GLU 353; THR 347; LYS 520;	-	Pi-Alkil VAL 533; LEU 525; LEU 349 Pi-Anion ASP 351 Pi-Sulfur MET 522 Pi-Sigma LEU 387 Unfavorable Bump MET 357; LEU 354; TRP 383; ALA 350; MET 343; HIS 524; LEU 346; GLY 521; ILE 424; VAL 392;
Gnemonol C	+332.87	-	Konvensional CYS 530; LEU 354; PHE 404	-	Alkil, Pi-Alkil LEU 536; ILE 424; LEU 384 Pi-Sigma VAL 533; LEU 525 Pi-Sulfur MET 421 Unfavorable Bump, Unfavorable Donor-Donor TRP 383; LEU 387; ALA 350; MET 343; ASP 351; VAL 392; MET 388; LEU 391; GLU 353; LEU 428; ARG 394; LEU 349
Gnemonol D	+54.73	-	Karbon GLU 353; MET 343 Konvensional HIS 524	-	Unfavorable Bump TRP 383; MET 357; ALA 350; ASP 351; LEU 387 Alkil, Pi-Alkil LEU 525; LEU 384; LEU 354; LEU 391; LEU 428; MET 388; VAL 533 Pi-Pi T-shaped, Amide-Pi Stacked PHE 404
Gnemonol E	+50.47	-	Konvensional HIS 524; LEU 345 Ikatan Hidrogen Pi-Donor CYS 530	-	Pi-Sulfur MET 421 Pi-Anion ASP 351 Pi-Sigma LEU 525; MET 343; ALA 350 Pi-Alkil LEU 387; LEU 346; LEU 349; ILE 424; LEU 354 Pi-Pi T-Shaped

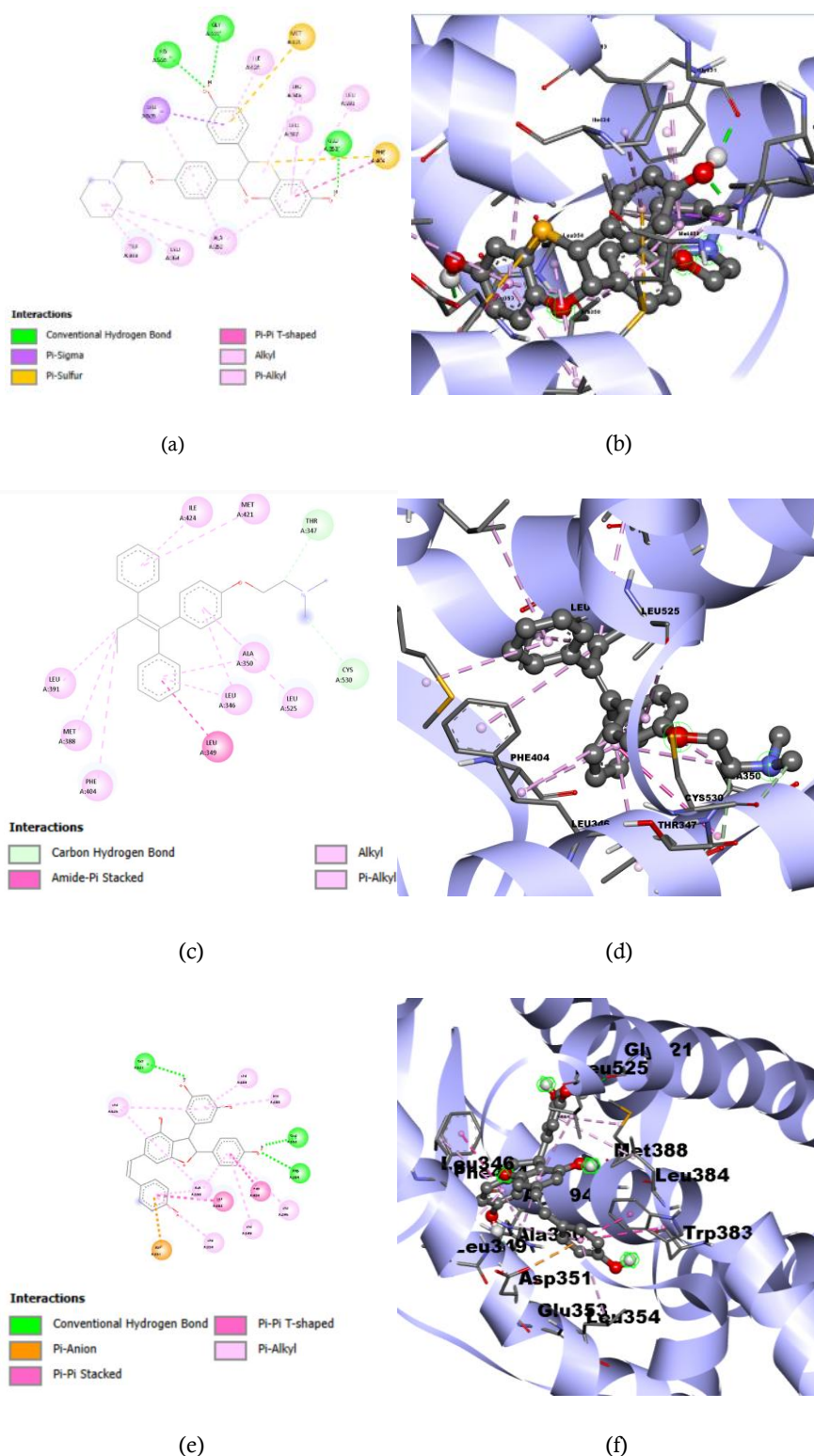
Nama senyawa	Energi ikatan (Kkal/mol)	KI (nM)	Interaksi dengan asam amino		
			Ikatan Hidrogen	Ikatan Van der waals	Ikatan lainnya
Gnemonol F	-1.67	-	Konvensional MET 517; MET 421	-	PHE 404 Unfavorable Bump ALA 350; LEU 384; MET 388; GLY 521; THR 347; MET 343; CYS 530; ASP 351 Alkil, Pi-Alkil LEU 354; MET 357; LEU 346 Pi-Sigma LEU 387; LEU 525
Gnemonol K	+27.42	-	Konvensional LEU 346	-	Unfavorable Bump LEU 354; CYS 530 Pi-Sigma LEU 387 Pi-Pi Stacked, Pi-Pi T-shaped TRP 383 Alkil, Pi-Alkil LEU 536; LEU 384; LEU 525; ALA 350 Pi-Lone Pair THR 347
Gnemonol L	+30.37	-	Konvensional LEU 346	-	Unfavorable Bump LEU 354; LEU 387; MET 343 Pi-Pi Stacked, Pi-Pi T-Shaped TRP 383 Alkil, Pi-Alkil LEU 536; LEU 525; LEU 384; ALA 350 Pi-Sulfur CYS 530 Pi-Lone Pair THR 347
Gnemonol M	-6.18	29.56	Konvensional LEU 387; HIS 524; GLU 353; ASP 351; LEU 346; LEU 345	-	Pi-Sigma ALA 350 Amide-Pi Stacked, Alkil, Pi-Alkil ILE 424; MET 388; LEU 391; LEU 428; CYS 530; LEU 525; LEU 384; LEU 349; MET 343 Pi-Sulfur MET 421
Gnemonoside A	-2.28	21.22	Konvensional CYS 530; ASP 351; GLU 353 Karbon LEU 346	-	Pi-Alkil VAL 533; LEU 525; LEU 354; ALA 350
Gnemonoside B	+7.52		Konvensional ASP 351; GLU 363 Karbon CYS 530	-	Unfavorable Bump ALA 360; LEU 525 Pi-Alkil LEU 354
Gnemonoside C	+22.16		Konvensional HIS 524 Karbon THR 347; LEU 387	-	Unfavorable Bump LEU 391; ARG 394 Pi-Sigma LEU 525; ALA 350 Pi-Alkil CYS 530; LEU 346; LEU 384 Pi-Anion ASP 351

Nama senyawa	Energi ikatan (Kkal/mol)	KI (nM)	Interaksi dengan asam amino		
			Ikatan Hidrogen	Ikatan Van der waals	Ikatan lainnya
Gnemonoside D	-6.63	13.91	Konvensional MET 421; GLU 353	-	Pi-Sulfur MET 343 Pi-Pi T-Shaped PHE 404 Pi-Alkil LEU 349; LEU 346; ALA 350; LEU 525; CYS 530
Gnemonoside E	+21.85	-	Konvensional ASP 351; LEU 346; GLY 521; CYS 530 Karbon PHE 404	-	Unfavorable Bump LEU 384; GLU 353 Pi-Sigma LEU 391; LEU 525 Pi-Alkil MET 343; ALA 350 Pi-Sulfur, Sulfur-X MET 421
Gnemonoside F	+1.04e+005	-	-	-	-
Gnemonoside K	+252.30	-	Karbon GLU 353; TRP 383 Konvensional LEU 346	-	Pi-Alkil MET 388; LEU 391; LEU 428
Latifolol	-5.15	168.53	Konvensional ASP 351; CYS 530; THR 347; LEU 345	-	Pi-Anion GLU 353 Pi-Sigma LEU 525 Pi-Sulfur MET 343 Pi-Pi T-Shaped TRP 383; PHE 404 Pi-Alkil LEU 354; ALA 350; LEU 387; LEU 346; LEU 349; ILE 424; MET 421
Pinostilbenosid	-9.08	0.21972	Konvensional ASP 351; LEU 387; GLU 353; LEU 346	THR 347	Pi-Sigma ALA 350 Alkil, Pi-Alkil LEU 525; TVR 526; CYS 530
Pterostilben	-7.88	1.69	Konvensional GLY 521; HIS 524 Karbon GLU 353		Pi-Sigma LEU 525 Pi-Sulfur MET 421 Pi-Pi T-shaped PHE 404 Alkil, Pi-Alkil LEU 349; LEU 346; LEU 387; ALA 350; LEU 391
Tetrametoksistilben	-7.64	2.50	Karbon GLY 521; LEU 387; GLU 353		Alkil, Pi-Alkil MET 388; LEU 428; LEU 391; LEU 525; ILE 424; HIS 524; ALA 350; PHE 404; LEU 349; LEY 346
2,3-dihidroksipropil ikosanoat	-7.02	7.12	Karbon LEU 387 Konvensional GLU 353		Alkil, Pi-Alkil ILE 424; MET 388; LEU 428; LEU 346; MET 421; MET 343; LEU 354; LEU 525; ALA 350 Pi-Sigma TRP 383
Asam oleat	-5.80	56.35	Konvensional HIS 524; GLY 521		Alkil-Pi Alkil LEU 346; LEU 349; LEU

Nama senyawa	Energi ikatan (Kkal/mol)	KI (nM)	Interaksi dengan asam amino		
			Ikatan Hidrogen	Ikatan Van der waals	Ikatan lainnya
Asam ursolat	-4.61	415.93	Konvensional CYS 530		525; ALA 350; PHE 404; MET 388; LEU 391; LEU 428; LEU 387 Pi-Sigma TRP 383 Alkil, Pi-Alkil LEU 387; PHE 404; LEU 346; ALA 350; LEU 525
(-)-Viniferin	-7.91	1.59	Konvensional ASP 351; ALA 350 Pi-Donor hydrogen TRP 383	THR 347	Pi-Sigma LEU 539; LEU 346 Pi-Pi Stacked, Amide-Pi Stacked LEU 346 Pi-Alkil LEY 354; CYS 530
Gnetin A	-8.80	0.353	Konvensional ARG 349; LEU 387; MET 517; CYS 530		Pi-Sigma THR 347 Alkil, Pi-Alkil MET 388; ALA 350; LEU 384; LEU 525; ILE 424
Gnetin C	-10.47	0.021	Konvensional GLY 521; GLU 353; ARG 394	-	Pi-Anion ASP 351 P-Pi Stacked, Pi-Pi T-shaped TRP 383; PHE 404 Pi-Alkil LEU 525; ALA 350; LEU 354; LEU 349; LEU 346; LEU 384; MET 388
Gnetin D	-9.55	0.1001	Konvensional THR 347; GLU 353	-	Pi-sulfur MET 421 Pi-Pi T-shaped, Amide-Pi Stacked PHE 404; LEU 349 Pi-Alkil LEU 346; ALA 350; LEU 525; ILE 424; MET 388
Gnetin E	-4.11	0.9633	Konvensional CYS 530; ASP 351; THR 347; LEU 345	-	Pi-Sigma ALA 350; LEU 525; MET 343 Pi-Sulfur MET 421 Pi-Pi T-shaped TRP 383; PHE 404 Pi-Alkil LEU 354; LEU 349; LEU 346; LEU 387; ILE 424

Energi ikatan atau energi bebas Gibbs (ΔG), menunjukkan nilai energi dimana ikatan antara protein dengan ligan berada dalam keadaan setimbang dan paling stabil. Nilai energi ikatan menentukan afinitas suatu senyawa terhadap molekul target dan selektivitasnya. Hubungan konstanta inhibisi dengan energi ikatan ditunjukkan dengan persamaan $\Delta G = RT \ln Ki$, dimana ΔG adalah energi ikatan, R adalah konstanta gas, T adalah temperatur, dan Ki adalah konstanta inhibisi. (Taghizadeh, *et al.*, 2022)

Pada penambatan molekul yang dilakukan dalam penelitian, parameter yang diamati antara lain energi ikatan serta konstanta inhibisi. Semakin kecil energi ikatan akan semakin efektif pula ikatannya, karena tidak memerlukan banyak energi. Parameter selanjutnya adalah konstanta inhibisi, yang merupakan konstanta yang menunjukkan kemampuan inhibisi terhadap reseptor dalam satuan mikromolar. Konstanta inhibisi nantinya akan berdampak pada dosis yang diberikan untuk mencapai efek yang diharapkan. (Aulifa, *et al.*, 2024)



Gambar 4. Visualisasi (a) 2D dari ligan alami (b) 3D dari ligan alami (c) 2D dari Tamoxifen (d) 3D dari Tamoxifen (e) 2D dari Gnetin C (f) 3D dari Gnetin C.

Tamoxifen digunakan sebagai pengobatan terapi standar bagi kanker payudara dengan ER+. Penggunaan Tamoxifen menurunkan mortalitas kanker payudara sekitar 31% (Han, *et al.*, 2017). Secara farmakologis, Tamoxifen tergolong ke dalam modulator reseptor estrogen selektif (SERM). Tamoxifen menginduksi apoptosis melalui penghambatan jalur yang dimediasi oleh fosfolipase C, D, dan protein kinase C. Tamoxifen juga mengaktifasi caspase 6, 7, dan 9. Menurut penelitian terbaru, tamoxifen menstimulasi

aktivitas caspase-3. (Ahmed, *et al.*, 2021) Senyawa Tamoxifen dijadikan sebagai standar terhadap 38 senyawa uji Biji Melinjo. Senyawa dengan energi ikatan dan konstanta inhibisi mendekati Tamoxifen diperkirakan memiliki efektivitas yang sama dalam membasmi kanker payudara dengan ER+. Pada **Tabel 3.**, Gnetin C menunjukkan nilai energi ikatan serta konstanta inhibisi yang paling rendah dan sesuai jika dibandingkan dengan senyawa standar Tamoxifen, yakni -10,47 kkal/mol dengan konstanta inhibisi 0,021 μM

Pada **Tabel 3**, data energi yang bernilai negatif menunjukkan ikatan spontan antara ligan dengan reseptor. Namun, terdapat beberapa senyawa dengan energi ikatan positif, diantaranya Gnemonol A, Gnemonol B, Gnemonol C, Gnemonol D, Gnemonol E, Gnemonol K, Gnemonol L, Gnemonoside B, Gnemonoside C, Gnemonoside E, dan Gnemonoside F. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa-senyawa tersebut tidak mampu berikatan langsung dengan reseptor. Apabila dilihat dari interaksi dengan asam aminonya, baik Tamoxifen maupun Gnetin C memiliki interaksi Pi-Alkil dengan ALA 350, LEU 346, LEU 525, dan MET 388. Hal ini menunjukkan ikatan Pi-Alkil dengan ALA 350, LEU 346, LEU 525, dan MET 388 penting untuk berikatan dengan ER α . Gnetin C memiliki aktivitas antikanker yang kemungkinan bergantung pada caspase-3 atau caspase-7 (Anisong, *et al.*, 2022). Studi sebelumnya menyatakan bahwa Tamoxifen menginduksi apoptosis dengan aktivasi caspase-3. Caspase adalah sistein protease, enzim penting dalam inisiasi, propagasi, dan eksekusi dari apoptosis. Hal ini menunjukkan adanya kesamaan lain dari Gnetin C dengan Tamoxifen terkait mekanisme induksi apoptosis sel. Dengan demikian, Gnetin C menjadi kandidat yang potensial dalam obat terapi kanker payudara dengan ER+.

Simpulan

Berdasarkan pengujian Lipinski RO5, ADMET, dan penambatan molekuler terhadap 38 senyawa uji metabolit sekunder biji melinjo, Gnetin C memenuhi persyaratan RO5 dan ADMET. Hasil penambatan molekuler pada Gnetin C menunjukkan energi ikatan (ΔG) sebesar -10.47 kkal/mol dengan konstanta inhibisi sebesar 0.021 μM . Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk menentukan dosis optimal serta mengevaluasi keamanan dan efektivitas Gnetin C sebagai kandidat terapi kanker payudara yang menargetkan reseptor estrogen alfa (ER α).

Daftar Referensi

- Agu, P., Afiukwa, C., Orji, O., Ezech, E., Ofoke, I., Ogbu, C., Ugwuja, E., Aja, P. 2023. Molecular docking as a tool for the discovery of molecular targets of nutraceuticals in diseases management. *Scientific reports*. 13(1):1-18.
- Ahmad I, Kuznetsov A. E, Pirzada AS, Alsharif KF, 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>
- Ahmed, N.S., Samec, M., Liskova, A. et al. 2021. Tamoxifen and oxidative stress: an overlooked connection. *Discov Onc.* 12(17). <https://doi.org/10.1007/s12672-021-00411-y>
- Anisong, N., Siripongvutikorn, S., Wichienchot, S., Puttarak, P. 2022. A comprehensive review on nutritional contents and functional properties of Gnetum gnemon Linn. *Food Science and Technologies*, 42(1):e100121.
- Asep, S., Muhammad, I., Ramadha, T., Sahidin, S. 2024. Melinjo Seeds (Gnetum gnemon L.) Antioxidant Activity and Cytotoxic Effect on MCF-7 Breast Cancer Cells: A Study Based on Tracing of Resveratrol Compounds. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 16(1):16-23.
- Aulifa, D., Amirah, S., Rahayu, D., Megantara, S., Muchtaridi, M. 2024. Pharmacophore Modeling and Binding Affinity of Secondary Metabolites from Angelica keiskei to HMG Co-A Reductase. *Molecules*, 29(13):2983.
- Az-Zahra, F., Afidika, J., Diamantha, S.D.A., Rahmani, A.E., Fatimah, S. & Aulifa, D.L. 2022. In silico study of betel leaves compound (Piper betle L.) as acetylcholinesterase enzyme inhibitor in alzheimer disease. *Indonesian Journal of Biological Pharmacy*. 2(2): 44-58.
- Chatatikun, M., Pattarangoon, N., Sama-ae, I., Ranteh, O., Poolpirom, M., Pantanakong, O., Chumworadet, P., Kawakami, F., Imai, M., Tedasen, A. 2024. Mechanistic exploration of bioactive constituents in Gnetum gnemon for GPCR-related cancer treatment through network pharmacology

- and molecular docking. *Scientific Reports*, 14(1):25738. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-75240-4>
- Chihomvu, P., Ganesan, A., Gibbons, S., Woollard, K., Hayes, M. 2024. Phytochemicals in Drug Discovery – A Confluence of Tradition and Innovation. *Int. J. Mol. Sci.* 25(16):8792.
- Ferreira, L.L.G., dan Andricopulo, A.D. 2019. ADMET modeling approaches in drug discovery. *Drug Discovery Today*, 24(5): 1157-1165.
- Ghayoumpour N, Ghafouri H. 2025. Enhancing breast cancer treatment: Evaluating the efficacy of hyaluronic acid-coated tamoxifen-loaded solid lipid nanoparticles on MCF7 cells. *Human & Experimental Toxicology*. 1(1);44. doi:10.1177/09603271251322531
- Ghose, A. K., Herbertz, T., Hudkins, R. L., Dorsey, B. D., & Mallamo, J. P. 2016. Knowledge-based, central nervous system (CNS) lead selection and lead optimization for CNS drug discovery. *ACS Chemical Neuroscience*. Vol 7(4), 466–474. <https://doi.org/10.1021/acschemneuro.6b00029>
- Giordano, D., Biancaniello, C., Argenio, M. A., Facchiano, A. 2022. Drug Design by Pharmacophore and Virtual Screening Approach. *Pharmaceuticals (Basel)*, 15(5): 646.
- Global Cancer Observatory. 2022. Breast Cancer Fact Sheet. Available online at <https://gco.iarc.who.int/media/globocan/factsheets/cancers/20-breast-fact-sheet.pdf> [Accessed on May 28, 2025]
- Han, N. N., Zhou, Q., Huang, Q., & Liu, K. J. (2017). Carnosic acid cooperates with tamoxifen to induce apoptosis associated with Caspase-3 activation in breast cancer cells in vitro and in vivo. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, 89, 827–837. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.01.084>
- Hongxia, L., Songyan, H., Chunbo, D., dan Zhida, L. 2025. Advancements in conventional cancer therapy combined with immunotherapy. *Oncology and Translational Medicine*, 11(1):17-28.
- Liao, L. 2025. Inequality in breast cancer: Global statistics from 2022 to 2050. *The breast*. 79(1):103851.
- Lukasiewicz, S., Czezelewski, M., Forma, A., Baj, J., Sitarz, R., Stanislawek, A. 2021. Breast Cancer–Epidemiology, Risk Factors, Classification, Prognostic Markers, and Current Treatment Strategies–An Updated Review. *Cancers*, 13(17):4287. <https://doi.org/10.3390/cancers13174287>.
- 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. *Mar. Drugs*. 20(1):29.
- Ma'ruf, H., Ramadhan, M., Syafriadi, R., Suryani, O. 2025. Molecular Docking Senyawa pada Buah Mengkudu (*Morinda Citrifolia* L.) terhadap Reseptor PDGFR- α sebagai Kandidat Antikanker Paru-Paru. *Jurnal Medika Farmaka*, 3(1):303-310.
- Miziak, P., Baran, M., Błaszczak, E., Przybyszewska-Podstawka, A., Kałafut, J., Smok-Kalwat, J., Dmoszyńska-Graniczka, M., Kiełbus, M., & Stepulak, A. 2023. Estrogen Receptor Signaling in Breast Cancer. *Cancers*, 15(19), 4689. <https://doi.org/10.3390/cancers15194689>
- Moussa, N., Hassan, A., Gharaghani, S. 2021. Pharmacophore model, docking, QSAR, and molecular dynamics simulation studies of substituted cyclic imides and herbal medicines as COX-2 inhibitors. *Heliyon*, 7(4): e06605.
- Nayak, M. G., George, A., Vidyasagar, M. S., Mathew, S., Nayak, S., Nayak, B. S., Shashidhara, Y. N., & Kamath, A. 2017. Quality of Life among Cancer Patients. *Indian journal of palliative care*, 23(4), 445–450. https://doi.org/10.4103/IJPC.IJPC_82_17
- Rahmawaty, A., Cahyani, F.R., Safitri, N., Sitepu, A.A.N.C., Hapitria, E.N. & Megantara, S. 2022. Uji in silico kandungan senyawa tanaman anggur (*Vitis vinifera* L.) untuk kandidat obat anti hiperlipidemia. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*. 26(2): 57-62.
- Rai, M., Singh, A., Paudel, N., Kanase, A., Falletta, E., Heyda, J., Barghash, R., Singh, S., Soos, M. 2023. Herbal concoction Unveiled: A computational analysis of phytochemicals' pharmacokinetic and toxicological profiles using novel approach methodologies (NAMs). *Current Research in Toxicology*, 5, 100118. <https://doi.org/10.1016/j.crttox.2023.100118>

- Ranjith, D., Ravikumar, C. 2019. SwissADME predictions of pharmacokinetics and drug-likeness properties of small molecules present in *Ipomoea mauritiana* Jacq. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 8: 2063–2073.
- Shamsian, S., Sokouti, B., & Dastmalchi, S. 2024. Benchmarking different docking protocols for predicting the binding poses of ligands complexed with cyclooxygenase enzymes and screening chemical libraries. *BioImpacts (BI)*, 14(2), 29955. <https://doi.org/10.34172/bi.2023.29955>
- Taghizadeh, M. S., Niazi, A., Moghadam, A., Afsharifar, A. 2022. Experimental, molecular docking and molecular dynamic studies of natural products targeting overexpressed receptors in breast cancer. *PLoS ONE*, 17(5): e0267961. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0267961>
- Veber, D. F., et al. 2017. Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. *Journal of Medicinal Chemistry*, 60(2), 522–53. <https://doi.org/10.1021/jm020017>.
- Wei, S. 2023. Hormone receptors in breast cancer: An update on the uncommon subtypes. *Pathology - Research and Practice*. 250(1):154791.
- World Health Organization. 2025. Cancer. Available online at https://www.who.int/health-topics/cancer#tab=tab_1 [Accessed on June 1, 2025]
- Zhang, Y., Ji, Y., Liu, S., Li, J., Wu, J, Jin, Q., Liu, X., Duan, H., Feng, Z, Liu, Y., Zhang, Y., Lyu, Z., Song, F., Song, F., Yang, L., Liu, H., Huang, Y. 2025. Global Burden of Female Breast Cancer: New Estimates in 2022, Temporal Trend and Future Projections up to 2050 Based on the Latest Release from GLOBOCAN. *Journal of the National Cancer Center*, 16(31):1-10.