

In Silico Study of Klabet Seed Compounds (*Trigonella foenum-gracum* L.) as Alpha Estrogen Inhibitors In Breast Cancer

Gracia Anastasya*, Lena Wensa, Shinta Permata, Asyifa Amatulloh,
Zulfa T.A. Fath, Ade Zuhrotun

Departemen Analisis Farmasi dan Kimia Medisinal, Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran, Jawa Barat, Indonesia

Submitted 04 March 2023; Revised 31 December 2023; Accepted 31 December 2023 ; Published 31 December 2023

*Corresponding author: gracianastasyaa@gmail.com

Abstract

The prevalence of breast cancer is still high. In 2021, breast cancer is on the first rank as the most common cancer in women. Receptors from normal breast cells and most breast cancer cells attach to circulating progesterone and estrogen. Estrogen receptor alpha is one of the biomarkers of breast cancer cells. ER- α inhibition is one of the breast cancer's targeted therapy. The active compound in fenugreek seeds (*Trigonella foenum-graecum* L.) has been known to have anticancer activity. The Lipinski Rules of Five prediction tests, Pre-ADMET Prediction, and Molecular Binding at the estrogen receptor alpha on 10 compounds contained in fenugreek seeds were tested. The results show that Diosgenin has potential as an anti-breast cancer drug candidate with binding energy value of -8.34 kcal/mol and KI value of 0.77067 μ M, but it has a high %PPB value so further consideration is needed.

Keywords: Breast cancer, estrogen- α , fenugreek, molecular docking

Studi *In Silico* Senyawa Biji Klabet (*Trigonella Foenum-Graecum* L.) Sebagai Inhibitor Estrogen Alfa Pada Kanker Payudara

Abstrak

Prevalensi kanker payudara masih tinggi. Pada tahun 2021 sendiri, kanker payudara menempati urutan pertama sebagai kanker yang umum terjadi pada wanita. Reseptor dari sel payudara normal dan kebanyakan sel kanker payudara menempel di sirkulasi progesteron dan estrogen. Reseptor estrogen- α merupakan salah satu biomarker sel kanker payudara. Inhibisi ER- α menjadi salah satu target terapi kanker payudara. Senyawa aktif pada biji klabet (*Trigonella foenum-graecum* L.) telah diketahui memiliki aktivitas antikanker. Dilakukan pengujian prediksi *Lipinski Rules of Five*, Prediksi Pre-ADMET, dan Penambatan Molekul pada reseptor estrogen- α terhadap 10 senyawa yang terkandung pada biji klabet. Hasil menunjukkan bahwa Diosgenin dan Yamogenin memiliki potensi sebagai kandidat obat anti kanker payudara dengan nilai energi ikatan -8,34 kkal/mol dan -8,26 kkal/mol serta nilai KI 0,77067 μ M dan 0,87544 μ M, namun memiliki nilai %PPB yang tinggi sehingga perlu dilakukan pertimbangan lebih lanjut.

Kata Kunci: Biji klabet, estrogen- α , kanker payudara, penambatan molekular

1. Pendahuluan

Kanker merupakan penyakit dimana terjadinya pertumbuhan sel tubuh yang tidak terkendali dan menyebar ke jaringan sekitarnya. Pada keadaan normal, sel dapat mengontrol pertumbuhannya. Kanker payudara merupakan kondisi dimana terjadinya pertumbuhan sel tidak normal yang berlipat ganda pada payudara mengakibatkan terbentuknya benjolan di daerah payudara.¹ Pada tahun 2020, sebanyak 2,3 juta wanita terdiagnosis kanker payudara dan 685,000 kematian secara global. Kanker payudara merupakan jenis kanker paling umum terjadi di dunia dibuktikan pada hingga akhir tahun 2020, sebanyak 7,8 juta wanita hidup terdiagnosis kanker payudara selama 5 tahun terakhir.²

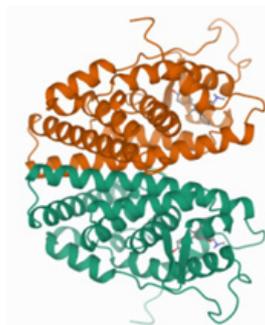
Deteksi reseptor estrogen- α (ER- α) merupakan salah satu biomarker utama pada kanker payudara yang memiliki peranan penting pada proses diagnosis dan terapi penyakit ini. Over ekspresi ER- α berhubungan dengan peningkatan proliferasi dan metastasis pada kanker payudara.³ Oleh sebab itu, inhibisi pada ER- α menjadi salah satu target terapi kanker payudara ER+.⁴ ER- α adalah reseptor terpenting pada kanker payudara. Reseptor ini diaktifkan dengan mengikat 17- β -estradiol (estrogen).⁵

Penelitian-penelitian terdahulu mengenai biji klabet telah dilakukan dan menunjukkan hasil bahwa biji klabet memiliki potensi aktivitas antikanker. Penelitian secara *in vitro*, diantaranya terhadap sel leukemia H-60, sel kanker usus besar manusia HT-29, dan human chang liver cells.⁶ Diosgenin termasuk dalam golongan saponin yang memiliki berat

molekul 414,6 g/mol. Diosgenin memiliki banyak aktivitas diantaranya yaitu aktivitas anti aging, antikanker, kardio protektif, antikoagulan, dan antiinflamasi. Diosgenin berperan dalam aktivitas antikanker pada biji klabet yang memiliki potensi untuk meningkatkan apoptosis.⁷ Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan oleh Agustini dkk (2015), Diosgenin dan Yamogenin memiliki afinitas pengikatan yang baik dengan ER- α dan dikonfirmasi dengan uji *in vitro* yang menunjukkan bahwa fraksi etil asetat memiliki efek sitotoksik pada sel MCF-7.⁸

Pengujian *in silico* ini dilakukan dengan dimulai dari prediksi *Lipinski Rule of Five*, Prediksi ADMET (Adsorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi, dan toksisitas), serta penambatan molekul dari senyawa aktif biji klabet sebagai ligan uji yang akan ditambatkan pada protein reseptor estrogen- α . Penambatan molekul dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui interaksi aktivitas biji klabet terhadap sel kanker payudara dengan protein ER- α . Senyawa aktif dalam biji klabet (*Trigonella foenum-graecum* L.) telah diketahui memiliki aktivitas antikanker. Kandungan senyawa kimia utama yang terdapat pada biji klabet diantaranya, saponin, flavonoid, asam amino, kumarin, alkaloid, dan lainnya.⁹ Pada penelitian kali ini, senyawa-senyawa dalam ekstrak biji klabet yang diuji diantaranya meliputi diosgenin, yamogenin, tigogenin, 4-hydroxyisolucine, trigonelline, rhaponticin, choline, gentianine, neurin, dan naringenin.^{9,10,11,12,13}

Uji toksisitas merupakan pengamatan aktivitas efek toksik suatu senyawa yang diberikan pada suatu sistem biologi dalam



Gambar 1. Protein Estrogen Reseptor-Alpha (PDB ID: 3ERT)

waktu yang singkat setelah pemberian zat dalam dosis tertentu. Prinsip dari uji ini menunjukkan bahwa komponen bioaktif akan memiliki sifat toksik pada pemberian dosis tinggi dan dapat pula memiliki efek farmakologi pada dosis yang lebih rendah.¹⁴

Belum terdapat penelitian yang membahas mengenai senyawa dari biji klabet dapat menghambat estrogen alfa pada kanker payudara. Oleh karena itu, penulis tertarik untuk melakukan studi *in silico*, untuk melihat data potensi biji klabet sebagai simplisia yang dapat digunakan untuk menangani kanker khususnya pada kanker payudara dan membantu perkembangan obat antikanker melalui *molecular docking*.

2. Metode

2.1. Alat

Perangkat keras yang digunakan adalah laptop pribadi bermerk Asus VivoBook model A412D dengan spesifikasi processor AMD Ryzen 5 3500U. Program yang digunakan dalam penelitian ini adalah *AutoDockTools-1.5.7*, *Chemdraw Ultra 12.0*, *Chem3D Pro 12.0*, *BIOVIA Discovery Studio 2020*.

2.2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah struktur 2D dan 3D dari senyawa diosgenin, yamogenin, tigogenin, *4-hydroxyisoleucine*, *trigonelline*, *rhaponticin*, *choline*, *gentianine*, neurin, naringenin, dan *4-hydroxytamoxifen* yang diunduh pada website Pubchem <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>, struktur 3D dari protein ER α (PDB ID: 3ERT) yang diunduh pada website *Protein Data Bank* <https://www.rcsb.org/structure/3ERT>, serta database senyawa *active* dan *decoy* yang diunduh pada website <http://dude.docking.org/>.

2.3. Prosedur Rinci

2.3.1. Prediksi *Lipinski Rules of Five*

Prediksi *Lipinski's Rule of Five* dilakukan untuk mengetahui profil *drug-likeness* dari senyawa uji dan senyawa pembanding dengan mencari terlebih dahulu senyawa-senyawa aktif yang terkandung di dalam

biji klabet. Analisis dilakukan melalui laman Pubchem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>) untuk mendapatkan struktur 2D dari senyawa aktif. Struktur 2D tersebut diunduh dengan format SDF. Membuka laman Swissadme (<http://www.swissadme.ch/index.php>) dan memasukkan file struktur 2D dengan format SDF yang sebelumnya telah diunduh. Selanjutnya, melakukan prediksi sifat fisikokimia hingga mendapatkan data-data yang dibutuhkan untuk prediksi *Lipinski Rules Of Five*. Data yang didapat dianalisis dan menentukan senyawa aktif dalam biji klabet yang memenuhi aturan *Lipinski Rules Of Five*.

2.3.2. Prediksi Farmakokinetik dan Toksisitas

Prediksi farmakokinetik dan toksisitas untuk memprediksi farmakokinetik (absorpsi, distribusi, metabolisme) dan toksisitas meliputi *Human Intestinal Absorption (HIA)*, *Caco2*, *Plasma Protein Binding (PPB)*, *Blood-Brain Barrier (BBB)*, potensi mutagen, dan karsinogenik yang dilakukan pada situs PreADMET (<https://preadmet.bmdrc.kr/>) dengan menggambarkan masing-masing senyawa uji.

2.3.3. Penambatan Molekul (*Molecular Docking*)

a. Preparasi reseptor

Preparasi protein target (PDB ID: 3ERT) dengan mengunduh file protein di *Protein Data Bank* <https://www.rcsb.org/> kemudian buka file pada *BIOVIA Discovery Studio*. Menghapus molekul air dan memisahkan reseptor dengan ligan alami kemudian disimpan dalam format pdb. Memasukan file reseptor pada *AutoDockTools-1.5.6* lalu menambahkan atom hidrogen dalam bentuk *polar only* dan menambahkan muatan kollman. Simpan file dalam format *receptor.pdbqt*.

b. Preparasi ligan

Preparasi protein target (PDB ID: 3ERT) dengan mengunduh file protein di *Protein Data Bank* <https://www.rcsb.org/> kemudian buka file pada *BIOVIA Discovery Studio*. Menghapus molekul air dan protein grup kemudian disimpan dalam format ligan.pdb. Memasukan file ligan pada *AutoDockTools-1.5.6* lalu

menambahkan atom hidrogen dalam bentuk *all* hidrogen dan menambahkan muatan gasteiger. Simpan *file* dalam format ligan. *pdbqt*.

b. Proses *docking*

Menentukan koordinat dan luas area kantung aktif dari protein target (PDB ID: 3ERT) menggunakan *Grid Box* sebesar 40 x 40 x 40 dengan titik koordinat $x = 30,01$; $y = -1,913$; dan $z = 24.207$ pada jarak 0,375 Å melalui program *AutoDockTools-1.5.6*. Menentukan parameter *docking* dengan mengatur nilai *genetic algorithm* menjadi *number of GA* sebesar 100 kemudian gunakan *Lamarckian GA* dan disimpan dalam format *dock.pdf*. Lakukan proses *docking* dengan cara menjalankan program *Auto Grid* melalui *Command Prompt*.

c. Analisis hasil *docking*

Menganalisis hasil *docking* dengan menentukan konformasi yang terbaik dilihat melalui energi bebas Gibbs (ΔG) yang dihasilkan. Melakukan visualisasi hasil *docking* dengan menggunakan *BIOVIA Discovery Studio* guna untuk melihat bentuk interaksi antara senyawa uji dengan residu asam amino pada reseptor baik dalam bentuk 3D maupun 2D.

3. Hasil

3.1. Prediksi *Lipinski Rules of Five*

Hasil prediksi *Lipinski Rules of Five* yang telah dilakukan, seluruh senyawa uji memiliki nilai yang memenuhi syarat *Lipinski Rules of Five*.

3.2. Prediksi Farmakokinetik dan Toksisitas

Hasil prediksi menunjukkan bahwa pada parameter absorpsi, semua senyawa memenuhi kriteria HIA kecuali *rhaponticin* dan *4-hydroxyisoleucine* sedangkan pada kriteria *Caco-2*, nilai tertinggi diperoleh oleh senyawa *tigogenin* dengan nilai sebesar 55,479 masuk ke dalam kategori sedang. Parameter distribusi ditunjukkan melalui nilai %PPB dan BBB. *Yamogenin*, *naringenin*, *diosgenin* dan *tigogenin* tidak memenuhi parameter nilai %PPB. Sedangkan pada

parameter BBB, hasil menunjukkan bahwa *diosgenin*, *tamogenin*, *tigogenin* memiliki nilai BBB yang baik sedangkan senyawa lainnya masuk ke kategori sedang. Pada parameter toksisitas, seluruh senyawa bersifat mutagen kecuali *diosgenin*, *yamogenin*, dan *tigogenin*. Sedangkan senyawa *diosgenin* dan *yamogenin* memiliki sifat karsinogen terhadap tikus, tetapi non-karsinogen terhadap mencit, sedangkan *tigogenin* bersifat karsinogenik terhadap tikus dan mencit.

3.3. Penambatan Molekul (*Molecular Docking*)

Berdasarkan hasil *docking* diperoleh bahwa senyawa dengan nilai energi ikatan yang rendah diantaranya adalah *tigogenin* dengan nilai sebesar -8,39 kkal/mol lalu disusul dengan *diosgenin* dengan -8,34 kkal/mol; *yamogenin* dengan -8,26 kkal/mol; dan *naringenin* dengan -8,08 kkal/mol. Sedangkan senyawa dengan nilai KI yang paling rendah yaitu *tigogenin* dengan KI sebesar 0.69456 μM lalu ada *diosgenin* dengan nilai 0,77067 μM , dan *yamogenin* dengan nilai 0,87544 μM

4. Pembahasan

Pada penelitian ini diawali dengan menganalisis sifat mirip obat (*drug-likeness*) dengan menggunakan aturan *lipinski (Lipinski rule of five)*. *Lipinski rule of five* adalah aturan yang menyatakan bahwa suatu senyawa memiliki sifat yang mirip dengan obat jika berat molekul (BM) pada senyawa kurang dari 500 Dalton, nilai koefisien partisi log P kurang dari 5, jumlah donor ikatan hidrogen kurang dari 5, dan jumlah akseptor ikatan hidrogen kurang dari 10.¹⁵

Berat molekul yang lebih dari 500 Da akan menyebabkan difusi yang tidak dapat menembus pada membran sel. Selain itu, berat molekul yang tinggi mengurangi konsentrasi senyawa pada permukaan epitel usus sehingga mengurangi penyerapannya dalam usus serta sistem saraf pusat.¹⁶ Nilai Log P yang lebih besar dari 5 menyebabkan senyawa obat akan memiliki tingkat toksisitas yang tinggi karena pada *lipid bilayer* akan tertahan lebih lama dan terjadinya distribusi yang lebih luas dalam tubuh. Molekul yang

Tabel 1. Hasil Prediksi *Lipinski Rules of Five*

Nama Senyawa	Berat Molekul (< 500 Da)	Log P (<5)	Ikatan Hidrogen		Keterangan
			Donor (<5)	Akseptor (< 10)	
Diosgenin	414,62 g/mol	4,49	1	3	Memenuhi
Yamogenin	414,62 g/mol	4,43	1	3	Memenuhi
Tigogenin	416,64 g/mol	4,53	1	3	Memenuhi
4-Hydroxyisoleucine	147,17 g/mol	0,47	3	4	Memenuhi
Trigonelline	137,14 g/mol	-3,11	0	2	Memenuhi
Rhaponticin	420,41 g/mol	2,51	6	9	Memenuhi
Choline	104,17 g/mol	-2,14	1	1	Memenuhi
Gentianine	175,18 g/mol	1,65	0	3	Memenuhi
Neurin	103,16 g/mol	-8,01	1	2	Memenuhi
Naringenin	272,25 g/mol	1,75	3	5	Memenuhi

tidak dapat lewat pada membran *lipid bilayer* diakibatkan nilai Log P yang terlalu negatif. Jumlah donor ikatan hidrogen yang kurang dari 5 dan jumlah akseptor ikatan hidrogen yang kurang dari 10 menandakan bahwa, jika semakin tinggi kapasitas ikatan hidrogen maka akan semakin tinggi juga energi yang dibutuhkan agar dapat terjadi proses absorpsi.¹⁷

Pada Tabel 1. menunjukkan bahwa kesepuluh senyawa pada biji tablet yakni, diosgenin, yamogenin, tigogenin, 4-hydroxyisoleucine, trigonelline, rhaponticin, choline, gentianine, neurin, dan naringenin memiliki hasil yang memenuhi syarat pada *Lipinski rule of five*.

Pengujian selanjutnya ini perlu dilakukan untuk menghindari terjadinya permasalahan farmakokinetik dimana ini

merupakan parameter penting dalam proses pengembangan obat. Selain itu, pengujian pre-ADMET ini dilakukan untuk mengidentifikasi potensi efek toksik dari senyawa sehingga dapat mengurangi risiko kegagalan dalam pengembangan obat dan memahami potensi interaksi antar obat untuk menghindari terjadinya efek yang tidak diinginkan. Parameter ADMET diantaranya meliputi *Human Intestinal Absorption (HIA)*, *Plasma Protein Binding (PPB)*, *Caco2*, potensi mutagen, *Blood-Brain Barrier (BBB)*, dan karsinogenik yang dilakukan pada situs PreADMET. Situs bekerja dengan cara membuat struktur kimia dari senyawa uji lalu di *submit* kemudian akan secara otomatis muncul nilai prediksi yang dibutuhkan. Hasil prediksi farmakokinetik dan toksisitas 10 senyawa biji klabet tertera pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil prediksi farmakokinetik dan toksisitas senyawa uji

Nama Senyawa	Parameter					
	Absorpsi		Distribusi		Toksitas	
	HIA (%)	Caco-2 (nm/sec)	PPB (%)	BBB	Mutagen	Karsinogen
Diosgenin	96,201	55,443	98,867	7,765	Non-mutagen	Carcino mouse (+) Carcino rat (-)
Yamogenin	96,201	55,444	98,868	7,765	Non-mutagen	Carcino mouse (+) Carcino rat (-)
Tigogenin	96,076	55,479	97,964	8,510	Non-mutagen	Carcino mouse (+) Carcino rat (+)

Tabel 2. Hasil prediksi farmakokinetik dan toksisitas senyawa uji

Nama Senyawa	Parameter					
	Absorpsi		Distribusi		Toksistas	
	HIA (%)	Caco-2 (nm/sec)	PPB (%)	BBB	Mutagen	Karsinogen
<i>Rhaponticin</i>	57,202	3,757	80,682	0,057	Mutagen	Carcino mouse (+) Carcino rat (-)
<i>Choline</i>	100,000	23,319	79,397	0,291	Mutagen	Carcino mouse (-) Carcino rat (+)
<i>Gentianine</i>	98,346	23,477	43,112	1,438	Mutagen	Carcino mouse (+) Carcino rat (-)
Neurin	100,000	21,109	72,949	0,493	Mutagen	Carcino mouse (-) Carcino rat (-)
Naringenin	87,318	10,521	100,000	0,597	Mutagen	Carcino mouse (-) Carcino rat (+)

HIA dan sel Caco-2 merupakan parameter absorpsi berdasarkan kekuatan obat untuk diabsorpsi dalam usus dan kemampuan permeabilitas di dalam sel Caco-2. HIA menyatakan penjumlahan dari bioavailabilitas dan absorpsi yang kemudian rasio ekskresi dilakukan evaluasi lewat empedu, urin, dan feses. Rentang nilai HIA yang menyatakan bahwa suatu senyawa memiliki sifat adsorpsi yang baik adalah 70-100%.¹⁸ Kategori parameter sel Caco-2 yaitu >70 nm/detik (kemampuan permeabilitas senyawa tinggi); 4- 70 nm/detik (kemampuan permeabilitas sedang); <4 nm/detik (kemampuan permeabilitas yang rendah).¹⁹ Semua senyawa memenuhi kriteria HIA kecuali *rhaponticin* dan *4-hydroxyisoleucine* sedangkan pada kriteria Caco-2, nilai tertinggi diperoleh oleh senyawa *tigogenin* dengan nilai sebesar 55,479% masuk ke dalam kategori sedang. Nilai yang baik menunjukkan bahwa senyawa memiliki permeabilitas yang baik terhadap epitel testinal sehingga dapat mempengaruhi nilai bioavailabilitasnya.²⁰

Plasma Protein Binding (PPB) menyatakan fraksi obat yang berada dalam bentuk bebas siap untuk disebarkan ke jaringan-jaringan. Ikatan ini dijabarkan pada rentang 0-100% dimana semakin tinggi nilai persentase maka semakin kuat ikatannya. Nilai %PPB lebih dari 90% menunjukkan bahwa molekul terikat kuat pada protein plasma. Ikatan kuat yang bersifat irreversible harus dihindari untuk mencegah toksistas, sehingga parameter

%PPB yaitu <90%.²¹ Berdasarkan hasil, terdapat senyawa yang tidak memenuhi diantaranya *tigogenin*, *diosgenin*, *yamogenin*, dan *naringenin*.

BBB merupakan parameter perbandingan yang menentukan kemampuan senyawa berpenetrasi ke sawar otak. Nilai BBB < 0.1 menunjukkan senyawa memiliki daya penetrasi SSP yang rendah, nilai BBB sebesar 0.1-2 menunjukkan senyawa memiliki daya penetrasi SPP yang sedang, dan BBB > 2 menunjukkan daya penetrasi yang tinggi.²² Hasil menunjukkan bahwa *Diosgenin*, *tamogenin*, *tigogenin* memiliki nilai BBB yang baik sedangkan senyawa lainnya masuk ke kategori sedang.

Metode pengujian toksistas dilakukan menggunakan *Ames test* yang merupakan metode sederhana untuk melihat apakah senyawa bersifat mutagen dan karsinogen atau tidak. Pengujian ini dilakukan pada bakteri strain mutan *Salmonella typhimurium*.²³ Hasil *Ames test* terdiri atas 2 kriteria yaitu hasil positif dan negatif. Bila hasil positif, dapat dikatakan bahwa senyawa uji bersifat mutagen dan mampu memicu terjadinya mutasi pada struktur DNA dalam sel, sedangkan bila hasil negatif menunjukkan senyawa uji bersifat sebaliknya.²⁴ Dilakukan pula uji karsinogenisitas yang akan menghasilkan positif apabila senyawa termasuk genotoksik dan terdapat aktivitas karsinogenik, sedangkan hasil negatif bersifat sebaliknya.²⁵ Seluruh senyawa bersifat mutagen kecuali

diosgenin, yamogenin, dan tigogenin.

Penambatan molekuler adalah suatu metode komputasi yang menyediakan informasi mengenai hubungan antar molekul protein, asam nukleat, lipid, dan ligan. Metode ini digunakan untuk mendapatkan konformasi protein dan juga ligan serta memperoleh orientasi yang relatif antara protein dengan ligan melalui sistem energi bebas yang yang diperkecil.²⁶ Reseptor yang digunakan yaitu Protein Estrogen Receptor-Alpha dengan kode PDB ID: 3ERT dimana reseptor ini terkompleksi dengan 4-Hydroxytamoxifen. Terdapat sejumlah total 11 ligan yang dilakukan proses penambatan molekuler, diantaranya ligan alami berupa 4-Hydroxytamoxifen dan 10 ligan uji senyawa aktif pada biji

klabet. Penambatan ulang ligan alami 4-Hydroxytamoxifen dilakukan pada protein reseptor estrogen alfa dilakukan untuk memvalidasi metode penambatan molekuler.

Berdasarkan hasil penambatan ulang tersebut, nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD) yang diperoleh yaitu 1,185. Hasil penambatan molekul dinyatakan *valid* jika memiliki nilai $RMSD \leq 2$.²⁷ Oleh sebab itu, hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa metode yang dilakukan *valid* dan dapat digunakan untuk proses penambatan molekuler senyawa 10 senyawa uji biji klabet. Hasil simulasi penambatan molekuler 11 ligan tersebut tertera pada Tabel 3.

Parameter dari hasil penambatan molekul ini dilihat berdasarkan nilai energi

Tabel 3. Hasil Simulasi Penambatan Molekul (*molecular docking*)

Senyawa	Cluster	Energi Ikatan (kcal/mol)	Ki (μM)	Interaksi dengan Asam Amino	
				Ikatan Hidrogen	Ikatan Lain-lain
4-Hydroxytamoxifen (Ligan alami)	1	-11.64	0,00206	-	(Alkyl dan Pi Alkyl) MET A:421 PHE 1:404 LEU A:525 LEU A:436
Diosgenin	1	-8,34	0,77067	-	(Alkyl dan Pi Alkyl) LEU A: 346 MET A: 343 LEU A: 348 TRP A : 383 LEU A: 525 ALA A: 350 VAL A: 533 CYS A: 530
Yamogenin	1	-8.26	0,87544	GLU A: 353 THR A: 347	(Alkyl dan Pi-Alkyl) LEU A: 387 LUE A: 391 ALA A: 350 LEU A: 346 LAU A: 525 PHE A:404 MET A: 421 (Carbon Hydrogen Bond) ASP A: 351
Tigogenin	1	-8.39	0,6945	-	(Alkyl dan Pi-Alkyl) TRP A:383 LEU A:525 ALA A:350 LEU A:384 MET A:388

Tabel 3. Hasil Simulasi Penambatan Molekul (*molecular docking*)

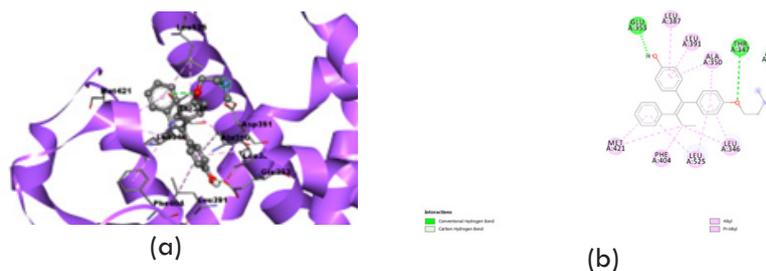
Senyawa	Cluster	Energi Ikatan (kkal/mol)	Ki (μM)	Interaksi dengan Asam Amino	
				Ikatan Hidrogen	Ikatan Lain-lain
4-Hydroxyisoleucine	1	-4,79	306,53	ARG A:394 GLU A:353	LEU A:346 MET A: 421 LEU A:391 PHE A: 404 (Alkyl) ALA A:350 LEU A:350 LEU A:346 LEU A:384 LEU A:387 (Carbon Hydrogen Bond) PHE A:404
Trigonelline	1	-3.55	2.380	-	(Alkyl) ALA A:350 LEU A:346 LEU A:349 (Attractive Charge) ARG A:394
Rhaponticin	1	-7.95	0,30133	GLU A:353 ARG A:394 ASP A:351	(Alkyl dan Pi-Alkyl) LEU A:384 ALA A:350 LEU A:525 (Carbon Hydrogen Bond) LEU A:346
Choline	1	-3.91	1.370	ARG A:394	(Carbon Hydrogen Bond) LEU A:346 (Attractive Charge) GLU A:353
Gentianine	1	-6,24	26,5	ARG A:394 LEU A:346	(Alkyl) ALA A:350 LEU A:384 LEU A:387 LEU A:391 MET A:388 (Carbon Hydrogen Bond) GLU A:353
Neurin	1	-3.27	3.760	-	(Carbon Hydrogen Bond) LEU A:387 (Attractive Charge) GLU A:353
Naringenin	1	-8,08	1,20	ARG A: 394 GLU A: 353 THR A: 347	(Carbon Hydrogen Bond) MET A: 288 (Pi-Alkyl) LEU A: 391 LEU A: 387 LEU A: 525 ALA A: 350

bebas Gibbs atau energi ikatan (ΔG) serta konstanta inhibisi (KI). Nilai energi ikatan yang semakin rendah menunjukkan bahwa ikatan kompleks antara senyawa dan reseptor semakin kuat. Hal ini disebabkan oleh kestabilan dan kekuatan interaksi non-kovalen pada senyawa dengan reseptor.¹⁸ Prediksi energi ikatan dilakukan melalui evaluasi fenomena fisika-kimia terpenting yang terlibat dalam pengikatan ligan-reseptor, termasuk interaksi antarmolekul, desolvasi, dan efek entropik, visualisasi ditunjukkan pada gambar 2, 3, dan 4.

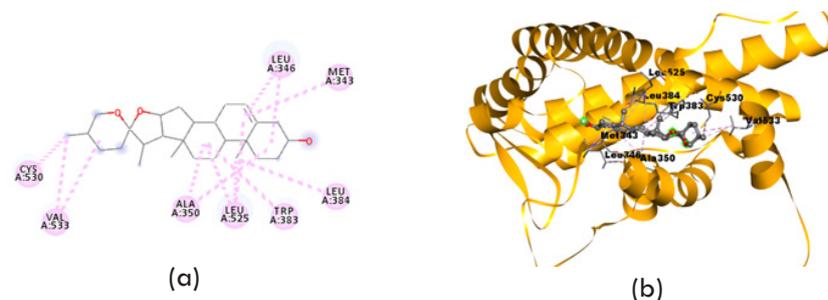
Berdasarkan hasil penambatan molekul, Senyawa dengan nilai energi ikatan yang rendah diantaranya adalah tigogenin dengan nilai sebesar -8,39 kkal/mol lalu disusul dengan diosgenin dengan -8,34 kkal/mol; yamogenin dengan -8,26 kkal/mol; dan naringenin dengan -8,08 kkal/mol. Sedangkan

senyawa dengan nilai KI yang paling rendah yaitu tigogenin dengan KI sebesar 0,69456 μM lalu ada diosgenin dengan nilai 0,77067 μM , dan yamogenin dengan nilai 0,87544 μM . Jika dibandingkan dengan hasil ligan alami nilai energi ikatan dan nilai KI yang diperoleh dari *4-Hydroxytamoxifen* sebesar -11,64 dan 0,00206 μM yaitu nilai paling rendah dibandingkan 10 senyawa lainnya. Nilai KI yang semakin kecil menunjukkan bahwa dosis yang diperlukan dalam mencapai aktivitas inhibisi ER- α semakin rendah dan afinitas ikatan yang terbentuk semakin tinggi. Sehingga dapat disimpulkan ligan alami memiliki afinitas yang baik dibandingkan dengan senyawa uji lainnya.

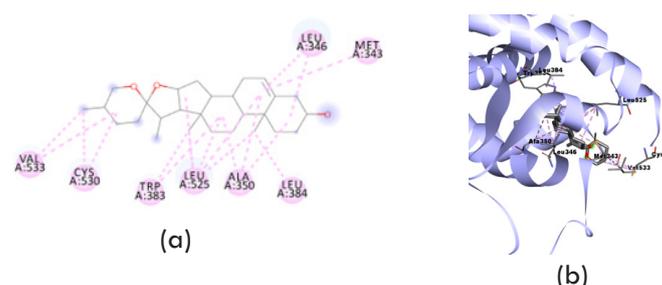
Selain itu, hasil visualisasi penambatan molekul pada setiap senyawa menghasilkan ikatan dengan asam amino yang berbeda-beda. Ikatan tersebut dapat berupa ikatan



Gambar 2. Visualisasi 2D interaksi antara protein ER- α dengan ligan alami (a) dan Visualisasi 3D interaksi antara protein ER- α dengan ligan alami (b)



Gambar 3. Visualisasi 2D Interaksi antara protein ER- α dengan diosgenin (a) dan Visualisasi 3D interaksi antara protein ER- α dengan diosgenin (b)



Gambar 4. Visualisasi 2D Interaksi antara protein ER- α dengan yamogenin (a) dan Visualisasi 3D interaksi antara protein ER- α dengan yamogenin (b)

hidrogen atau ikatan lain-lain seperti ikatan *Alkyl*, *Pi Alkyl*, *Carbon Hydrogen Bond*, dan *Attractive Charge* yang tertera pada Tabel 3.

5. Kesimpulan

Berdasarkan hasil *in silico* yang telah dilakukan, dari 10 senyawa uji yang digunakan Diosgenin dan Yamogenin memiliki potensi sebagai kandidat obat anti kanker payudara karena memenuhi persyaratan *Rules of Five*, Uji PreADMET, dan *molecular docking*. Tigogenin dikecualikan karena pada uji toksisitas bersifat karsinogenik terhadap tikus dan mencit. Pada penelitian selanjutnya, disarankan untuk dilakukan peninjauan lebih lanjut terhadap senyawa diosgenin dan Yamogenin karena hasil yang diperoleh memiliki nilai %PPB yang tinggi.

Daftar Pustaka

1. Depkes RI. Pedoman Penemuan dan Penatalaksanaan Penyakit Kanker Tertentu di Komunitas. Jakarta: Departemen Kesehatan RI; 2009.
2. World Health Organization. Breast Cancer. [diunduh 01 Maret 2023]. Tersedia dari: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/breast-cancer#:~:text=In%202020%2C%20there%20were%202.3,the%20world's%20most%20prevalent%20cancer.>
3. Kapara, A., Brunton, V. G., Graham, D., dan Faulds, K. Characterisation of Estrogen Receptor Alpha (ER α) Expression in Breast Cancer Cells and Effect of Drug Treatment Using Targeted Nanoparticles and SERS. *Analyst*. 2020; 145(22), 7225-7233. DOI: 10.1039/D0AN01532F.
4. Yamamoto-Ibusuki, M., Arnedos, M., dan Andre, F. Targeted Therapies for ER+/HER2 Metastatic Breast Cancer. *BMC Medicine*. 2015; 13. 137
5. Plant, T.M. dan Zeleznik, A.J. (2015). *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction Fourth Edition*. USA: Elsevier.
6. Kaviarasan, M. Ramamurty, N., Gunasekaran, P., Varalakshmi, E., Anuradha, C. V. Fenugreek (*Trigonella Foenum Graecum*) Seed Extract Prevents Ethanol-Induced Toxicity And Apoptosis In Chang Liver Cells. *Alcohol & Alcoholism*. 2006; 41(3) 267–273.
7. Chaudhary, S., Chaudhary, P.S., Chikara, S.K., Sharma, M.C. and Iriti, M. Review on Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) and Its Important Secondary Metabolite Diosgenin. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*. 2018; 46(1): 22-31.
8. Agustini, K., Wiryowidagdo, S. and Kusmana, D. Cytotoxic Activity on MCF-7 Cells and *in Silico* Study of Sapogenin Steroids from *Trigonella foenum-graecum* L. *Indonesian Journal of Cancer Chemoprevention*. 2015; 6(1):1-6.
9. Nagore, D., Patil, P., and Kuber, V. Comparison between high performance liquid chromatography and high performance thin layer chromatography determination of Diosgenin from fenugreek seeds. *International Journal of Green Pharmacy*. 2012; 6(4): 315.
10. El Bairi. Holistic approach of *Trigonella foenum-graecum* in Phytochemistry and Pharmacology- A Review. *Current Trends in Technology and Science*. 2017; 3(1): 34-48.
11. Singh, P., Bajpai, V., Gond, V., Kumar, A., Tadigoppula, N., and Kumar, B. Determination of bioactive compounds of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) seeds using LC-MS techniques. In *Legume Genomics. Humana*, New York, NY; 2020.
12. He, Y., Wang, X., Suo, Y., Ding, C., and Wang, H. Efficient protocol for isolation of rhaponticin and rhapontigenin with consecutive sample injection from fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) by HSCCC. *Journal of chromatographic science*. 2016; 54(3): 479-485.
13. Michael, D., and D. Kumawa. Legend and archeology of fenugreek, constitutions and modern applications of fenugreek seeds. *International Symposium, USA*. 2003; 41-42.
14. Makiyah, A., dan Sumirat T. Uji Toksisitas Akut yang Diukur dengan Penentuan LD50 Ekstrak Etanol Umbi Iles-iles (*Amorphophallus variabilis* Bl.) pada

- Tikus Putih Strain Wistar. MKB. 2017; 49(3):145- 155.
15. Lipinski, C. A. Drug-like properties and the causes of poor solubility and poor permeability. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods.* 2000; 44 (1): 235–249.
 16. Shay, A. C., Powers, J., Doescher, T. A. *Adult-Gerontology Clinical Nurse Specialist Certification Review.* Newyork: Springer Publishing; 2021.
 17. Syahputra, G., Ambarsari, L., dan Sumaryada, T. Simulasi Docking Kurkumin Enol, Bisdemetoksi Kurkumin dan Analognya sebagai Inhibitor Enzim 12-Lipoksigenase. *Jurnal Biofisika.* 2011; 10(1), 55-67.
 18. Prasetiawati, R., Suherman, M., Permana, B., & Rahmawati, R. Molecular docking study of anthocyanin compounds against Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) as anti-lung cancer. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology,* 2021; 8(1), 8-20.
 19. Cheng, J., Palva, A.M., de Vos, W.M., dan Satokari, R. Contribution of the intestinal microbiota to human health: from birth to 100 years of age. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2013; 358: 323-46.
 20. Prasetiawati R, Suherman M, Permana B, Rahmawati. Molecular Docking Study of Anthocyanidin Compounds Against Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) as Anti-Lung Cancer. *IJPST.* 2021; 8(1): 8-20
 21. Kumar, R., Giri, A., Nadendla, R.R. In Silico ADME Profiling of CDK9 Inhibitors. *Journal of Scientific Research in Pharmacy.* 2018; 7(3): 30-4.
 22. Suherman M, Prasetiawati R, Ramdani D. Virtual Screening Of Tamarind Active Compounds (Tamarindus Indica L.) On Selective Inhibitor Siklooksigenase-2. *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari.* 2020;11(2): 135
 23. Hardjono, S. Prediksi sifat farmakokinetik, toksisitas dan aktivitas sitotoksik turunan N-benzoil-N'-(4-fluorofenil) tiourea sebagai calon obat antikanker melalui pemodelan molekul. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia.* 2017; 14(2), 246-255. ISSN 2614-6495.
 24. Hsu KH, Su BH, Tu YS, Lin OA, and Tseng YJ. Mutagenicity in a Molecule: Identification of Core Structural Features of Mutagenicity Using a Scaffold Analysis. *PLoS One.* 2016; 11(2).
 25. Noviardi HME, Ramadhan R. Penapisan Molekular Kandidat Obat Sintetik Tuberkulosis terhadap Protein Tirosin Kinase Mycobacterium tuberculosis. *Jurnal Farmamedika.* 2020; 5(2): 60-69
 26. Ferreira, L DosDantos, R., Olivia, G., Andricopulo, A. Molecular Docking and Structure-based Drug Design Strategies. *Molecules.* 2015; 20 (2): 384-421.
 27. Chang Y, Min J, Jarusiewicz J.A., Actis M, Bradford S.Y.C, Mayasundari A, Yang L, Chepyala D, Alcock L, Roberts K.G, Nithianantham S, Maxwell D, Rowland L, Larsen R, Seth A, Goto H, Imamura T, Akahane K & Mullighan C.G. Degradation of Janus Kinase CRLF2-rearranged Acute Lymphoblastic Leukemia. *Blood.* 2021; 138(23):2301-2302.