

IN SILICO STUDY OF CLOVE (*Syzygium aromaticum* L.) EUGENOL COMPOUNDS ON ER- α , ER- β AND HER-2 RECEPTORS IN BREAST CANCER

**STUDI IN SILICO SENYAWA EUGENOL CENGKEH (*Syzygium aromaticum* L.)
TERHADAP RESEPTOR ER- α , ER- β DAN HER-2 PADA KANKER PAYUDARA**

Khumairah Mohtar^{1)*}, Fatimawali¹⁾, Erladys M. Rumondor¹⁾, Olvie S. Datu¹⁾, Trina Tallei²⁾

¹⁾Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT Manado, 95115

²⁾Program Studi Biologi FMIPA UNSRAT Manado, 95115

*khumairahmohtar01@gmail.com

ABSTRACT

Breast cancer is a malignant tumor that can attack the breast tissue which consists of the mammary glands, mammary gland ducts, and the supporting tissues of the breast. Breast cancer develops from normal cells that undergo proliferative changes. Breast cancer is a type of cancer with the greatest prevalence in women in Indonesia. Estrogen receptor alpha (ER- α), estrogen beta (ER- β) and human epidermal growth factor receptor 2 (HER-2) induced by the hormone estrogen will activate genes that play a role in the growth of breast cancer cells. This study aims to determine the potential results of the interaction of the molecular bonding of clove eugenol compounds to the receptor target in breast cancer. The method used is molecular docking using Autodock Vina software. The results showed that eugenol compounds can interact with ER- α , ER- β , and HER-2 and have the potential as breast anticancer with the best binding affinity based on the observed RMSD value.

Keywords: ER- α , ER- β , HER-2, Eugenol, docking

ABSTRAK

Kanker payudara adalah tumor ganas yang dapat menyerang jaringan payudara yang terdiri dari kelenjar susu, saluran kelenjar susu, dan jaringan penunjang payudara. Kanker payudara berkembang dari sel normal yang mengalami perubahan proliferasi. Kanker payudara adalah jenis kanker dengan prevalensi terbesar pada wanita di Indonesia. Reseptor estrogen alfa (ER- α), estrogen beta (ER- β) dan reseptor faktor pertumbuhan manusia-2 (HER-2) yang diinduksi oleh hormon estrogen akan mengaktifkan gen-gen yang berperan dalam pertumbuhan sel kanker payudara. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi hasil interaksi penambatan molekuler senyawa eugenol cengkeh terhadap target reseptor pada kanker payudara. Metode yang digunakan yaitu penambatan molekuler docking menggunakan perangkat lunak Autodock Vina. Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa eugenol dapat berinteraksi dengan ER- α , ER- β , dan HER-2 dan berpotensi sebagai antikanker payudara dengan binding affinity terbaik didasarkan pada nilai RMSD yang dilihat.

Kata kunci: ER- α , ER- β , HER-2, Eugenol, docking

PENDAHULUAN

Kanker payudara adalah tumor ganas yang dapat menyerang jaringan payudara yang terdiri dari kelenjar susu (kelenjar pembuat air susu), saluran kelenjar (saluran air susu), dan jaringan penunjang payudara. Kanker payudara menyebabkan sel dan jaringan payudara berubah bentuk menjadi abnormal dan bertambah banyak secara tidak terkendali (American Cancer Society, 2017).

Estrogen- α (ER- α) berhubungan dengan stimulasi estrogen pada ekspresi gen dan proliferasi sel. ER- α berperan penting dalam perkembangan kanker payudara, bekerja sebagai *ligand-inducible transcription factor*, dan dapat digunakan untuk menentukan pertumbuhan, survival, serta diferensiasi sel kanker payudara (Anggorowati, 2013). Estrogen- β (ER- β) bertindak sebagai modulator negatif pada aksi ER- α dan juga memberi efek supresi pertumbuhan. Estrogen diketahui memainkan peran yang penting dalam perumbuhan sel kanker payudara sebab terekspresi secara berlebih dalam jaringan kanker (Ikeda dan Inoue, 2004).

HER-2 (*human epidermal growth factor receptor 2*) berperan dalam proliferasi, migrasi, bertahan hidup dan pertumbuhan sel. Proliferasi sel epithelial salah satunya diatur oleh *Human Epidermal Growth Factor Receptor* (HER). Sekitar 20-25% kanker payudara menunjukkan ekspresi berlebih dari gen tersebut. Kanker payudara HER-2 positif cenderung lebih agresif dan menyebar lebih cepat daripada kanker lainnya (Franklin *et al.*, 2004).

Pengobatan menggunakan metabolit aktif antiestrogen tamoksifen yaitu *4-Hidroksitamoksifen* yang merupakan modulator reseptor estrogen selektif (SERM) dari kelompok *triphenylethylene* adalah terapi lini pertama untuk sebagian besar pasien dengan kanker payudara, untuk kanker payudara dengan status HER-2 positif. Obat yang paling banyak digunakan adalah trastuzumab, yang bekerja pada reseptor HER-2 yang ada pada sel kanker payudara dan menghambat pertumbuhan sel-sel kanker payudara (Lykkesfeldt *et al.*, 1994). Namun dalam beberapa waktu ada wanita yang mendapat pengobatan *4-Hidroksitamoksifen* dan trastuzumab mengalami penurunan respon atau bahkan tidak memberikan respon terhadap pengobatan kemoterapi kanker payudara. Hal tersebut mungkin terjadi karena timbulnya resistensi. Sekitar 40% pasien akhirnya kambuh dan meninggal karena resistensi setelah

terapi selama 7-10 bulan (Ring *et al.*, 2004; Wind *et al.*, 2011).

Diperlukan suatu pengembangan terapi terhadap kanker payudara yang memiliki target spesifik dan selektivitas yang tinggi terhadap terapi kanker payudara dengan eksplorasi potensi bahan alam berkhasiat. Eugenol merupakan salah satu senyawa dari kelompok phenylpropene dengan rumus molekul $C_{10}H_{12}O_2$. Eugenol disintesis dari L-phenylalanine menjadi *coniferyl alcohol*, *coniferyl acetate* dan kemudian menjadi eugenol melalui proses *eugenol synthase* (EGS) (Louie *et al.*, 2007). Eugenol berwarna kuning bening hingga kuning pucat, kental seperti minyak, bersifat mudah larut dalam pelarut organik dan sedikit larut dalam air. Eugenol memiliki berat molekul 164,20 dengan titik didih 250–255°C. Eugenol merupakan salah satu *essential oil* yang terdapat pada cengkeh dengan kandungan 80-90% (Prianto, *et al.* 2013).

Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa eugenol memiliki berbagai aktivitas biologi, seperti: antifungi, antikanker, dan antiinflamasi. Sebagai aktivitas antikanker eugenol bersifat proapoptotik pada kanker payudara dengan menurunkan regulasi E2F1/survivin (Al-sharif *et al.*, 2013).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah eugenol berpotensi untuk menghambat ekspresi berlebih reseptor ER- α , ER- β , dan HER2, dimana dalam pengujian terhadap potensi eugenol sebagai agen antikanker payudara maka dilakukan dengan mengetahui afinitas dan visualisasi interaksi ikatan dari eugenol terhadap protein target ER- α , ER- β , dan HER2 dengan menggunakan metode *molecular docking* secara *in silico* (pemodelan komputer).

METODOLOGI PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sam Ratulangi Manado untuk proses penambatan molekuler selama bulan Desember 2020 hingga Maret 2021.

Alat dan Bahan

Alat

Laptop Hewlett-Packard dengan spesifikasi Intel® Core™ i3-7020U @2.30GHz, RAM 4 gigabyte dan Graphic Card (Intel® HD Graphic 520 dan AMD Radeon Graphic). Perangkat lunak yang digunakan berupa Sistem Operasi Windows 10, Paket Autodesk Tools (*The*

Scripp Research Institute), Open Babel 2.3.2, Discovery Studio Visualizer 2020 (*Dessault Systemes BIOVIA*), Autodock Vina (*The Scripp Research Institute*).

Bahan

Struktur tiga dimensi dari reseptor ER- α , ER- β , dan Her 2 diunduh dari situs Protein Data Bank dengan PDB ID : 5W9D, 1QKM, dan 4RJ3 dan Struktur tiga dimensi ligan yaitu senyawa eugenol diunduh dari situs PubChem.

Prosedur

Langkah awal sebelum melakukan proses penambatan molekul yaitu penyiapan struktur makromolekul Reseptor dan ligan yang akan digunakan. Pengunduhan makromolekul ER- α (PDB ID : 5W9D), ER- β (PDB ID : 1QKM), dan Her-2 (PDB ID : 4RJ3) dilakukan lewat server online Protein Data Bank dengan format .pdb. Struktur yang diperoleh ini dipisahkan dari residu non standar yang masih terdapat dalam makromolekul untuk memperoleh struktur molekul murni yang siap ke tahap selanjutnya dengan menggunakan perangkat lunak *Discovery Studio Visualizer 2020*. Kemudian makromolekul reseptor dioptimasi dengan Autodocktools. Setelah itu dilakukan pengaturan *grid box* mengikuti area sisi aktif reseptor. *Grid box* ini meliputi center_x, center_y, center_z, untuk mengatur parameter *box* pada makromolekul protein, kemudian size_x, size_y, dan size_z, dan *spacing* (angstrom) untuk menentukan besar kecilnya *grid box* untuk ruang penambatan ligan tersebut. Setelah dioptimasi reseptor tersebut disimpan dalam format PDBQT, selanjutnya untuk persiapan ligan diunduh pada *website* Pubchem dan diunduh dengan format .sdf. Struktur yang diunduh dalam bentuk 3D. Ligan telah dipreparasi dengan Open Babel yang merupakan perangkat lunak untuk mengubah beberapa format berkas kimia. Perangkat ini berfungsi sebagai pencarian konformer dan penggambaran 2D, koversi *batch* dan pencarian sub struktur dan kemiripan (O,Boyle *et al.*, 2011). Kemudian dilakukan Pengoptimasian ligan dengan cara penambahan muatan *gasteiger* (muatan parsial) dan pengaturan *number of active torsion* dengan menggunakan Autodocktools. Autodocktool juga menambahkan nilai TORSDOF (*Torsion Degree of Freedom*) pada ligan. File ligan hasil pengoptimasian disimpan dalam format PDBQT (.pdbqt).

Hal yang selanjutnya dilakukan yaitu penambatan molekul reseptor dan ligan dengan Autodock Vina. Langkah awal yang dilakukan tahap ini yaitu dengan menyalin berkas reseptor dan ligan yang sudah dalam format pdbqt. ke dalam folder vina. Berkas konfigurasi molekul dan urutan sisi aktif masing-masing diketik pada notepad. Nama berkas dapat ditulis bebas dengan menunjukkan reseptor dan ligan yang akan digunakan pada proses penambatan. Nama berkas yang tertulis pada notepad harus sama dengan berkas di folder vina. Urutan sisi aktif ligan yang sudah diatur sebelumnya, disimpan dengan nama 'seq.txt'. Center_x, center_y, center_z, size_x, size_y, dan size_z merupakan grid box parameter yang sudah diatur sebelumnya. Berkas disimpan dengan nama 'conf.txt'. Setelah pengaturan berkas konfigurasi selesai, maka proses penambatan dengan vina dapat dijalankan melalui perintah Command Prompt dengan perintah sebagai berikut "Vina --config conf.txt --log log.txt". proses penambatan dengan vina berlangsung selama 5-10 menit untuk sekali proses penambatan. Setelah mencapai 100 persen pada proses penambatan, maka akan diperoleh 2 berkas baru pada folder vina, yaitu 'log.txt' dan 'out.pdbqt'. Berkas 'log.txt' berisikan nilai afinitas ikatan dan *Root Mean Square Deviation* (RMSD), sedangkan berkas 'out.pdbqt' merupakan konformasi dari ligan-ligan yang ditambatkan. Kemudian dijalankan perintah "Vina_split --input out.pdbqt" maka akan muncul berkas baru pada folder vina dengan nama "out_ligand_1" dan seterusnya. Hal ini bertujuan untuk melihat sejumlah ligan yang berhasil ditambatkan.

Tahap terakhir yaitu visualisasi dengan cara drag reseptor dan out ligan 1 pada Discovery studio visualisai kemudian lihat hasilnya dalam bentuk 2D dan 3D.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sebelum dilakukan proses molekuler docking dilihat terlebih dahulu konformasi masing-masing ligan hasil penambatan dengan urutan berdasarkan nilai *binding affinity* dari yang terkecil sampai yang terbesar. Nilai *binding affinity* yang kecil (semakin negatif) menunjukkan bahwa konformasi yang terbentuk stabil dan tidak

membutuhkan energi yang besar untuk melakukan pengikatan atau interaksi. Sedangkan nilai *binding affinity* yang besar menunjukkan kurang stabilnya kompleks yang terbentuk. Untuk pengikatan ligan dan reseptor dengan nilai *binding affinity* yang rendah memiliki potensi untuk melakukan pengikatan dengan target atau reseptor tinggi (Pujiastuti, 2017).

Pada **Tabel 1**. Merupakan hasil penambatan molekuler reseptor ER- α (PDB ID : 5W9D), ER- β (PDB ID : 1QKM), dan Her-2 (PDB ID : 4RJ3) dengan *native ligand* dari masing-masing reseptor dan ligan Eugenol serta ligan kontrol positif yang digunakan yaitu *4-hidroksitamoksifen* dan Trastuzumab.

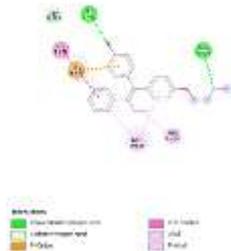
Tabel 1. *Binding affinity* ligan terhadap reseptor ER- α (5W9D), ER- β (1QKM), dan HER-2 (4RJ3).

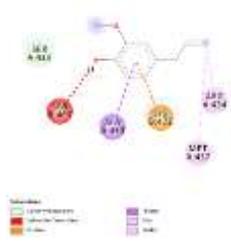
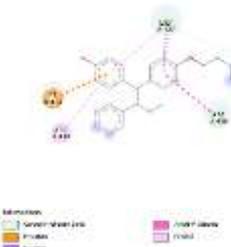
Identitas PubChem	Ligan	<i>Binding affinity</i> (kcal/mol)		
		5W9D	1QKM	4RJ3
131704461	9XY	-6,7	-	-
5280961	GEN	-	-9,1	-
86278568	3QS	-	-	-8,7
3314	Eugenol	-5.7	-6.3	-6.3
449459	<i>4-Hidroksitamoksifen</i>	-6,4	-5.5	-
146160902	<i>Trastuzumab</i>	-	-	-8.8

Hasil penambatan antara ligan murni senyawa cengkeh yang dipakai yaitu eugenol dengan reseptor ER- α pada konformasi ke-1 didapatkan nilai RMSD sebesar 0.000 Å dengan energi sebanyak -5.7 kcal/mol, ER- β pada konformasi ke-1 didapatkan nilai RMSD sebesar 0.000 Å dengan energi sebanyak -6.3 kcal/mol dan Her-2 pada konformasi ke-1 didapatkan nilai RMSD sebesar 0.000 Å dengan energi sebanyak -6.3 kcal/mol yang menandakan bahwa secara teori, ligan dan reseptor yang divalidasi telah memenuhi kriteria valid. Tiga parameter yang biasanya

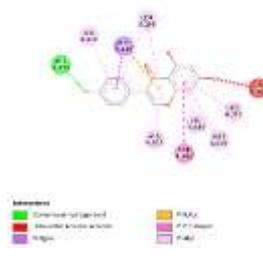
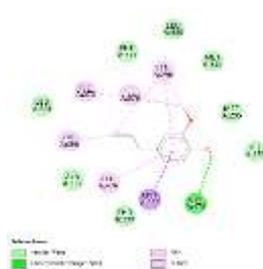
dipertimbangkan saat menghitung hasil penambatan molekuler yaitu *binding affinity*, interaksi residual asam amino yang terlibat, dan energi ikatan hidrogen (Ladokun *et al.*, 2018). Perlu dilihat visualisasi hasil interaksi yang terjadi antara ligan dengan residu asam amino reseptor. Pengidentifikasi ini menggunakan program Discovery Studio Visualizer 2020. **Tabel 2**. Sampai **Tabel 4**. Memperlihatkan hasil uji dan visualisasi interaksi tersebut.

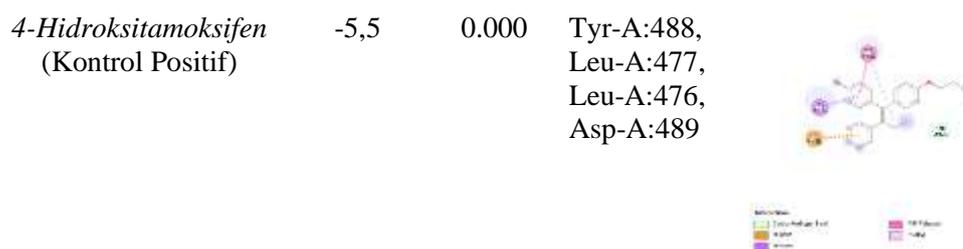
Tabel 2. Hasil Uji In Silico Senyawa Eugenol cengkeh, dengan Senyawa Perbandingan dan Native Ligand Reseptor ER- α dengan Metode Molekular Docking Autodock Vina

Ligan	<i>binding affinity</i> (kcal/mol)	RMSD (Å)	Residu Asam Amino	Interaksi Ikatan
Ligan Asli 9XY (<i>Native Ligand</i>)	-6,7	0.000	Ser-B:464, Ser-B:463, Arg-A:436, His-B:476, Lys-B:472, Met-A:437, Arg-A:434	

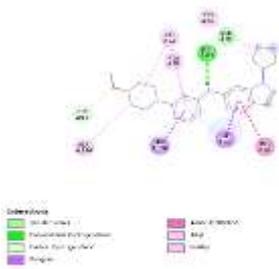
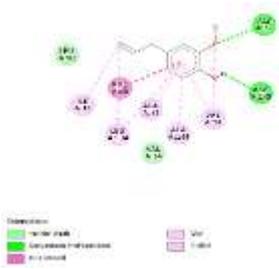
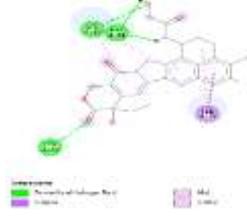
Eugenol (<i>Syzygium aromaticum</i> L.)	-5.7	0.000	Ser-A:433, Ser-B:463, Ala-A:430, Lys-B:472, Arg-A:434, Met-A:437	
4-Hidroksitamoksifen (Kontrol Positif)	-6,4	0.000	Met-A:437, Lys-A:472, Arg-A:434, Arg-A:436	

Tabel 3. Hasil Uji In Silico Senyawa Eugenol cengkeh, dengan Senyawa Perbandingan dan Native Ligand Reseptor ER- β dengan Metode Molekular Docking Autodock Vina

Ligan	binding affinity (kkl/mol)	RMSD (Å)	Residu Asam Amino	Interaksi Ikatan
Ligan Asli GEN (<i>Native Ligand</i>)	-9,1	0.000	Leu-A:298, Met-A:336, Leu-A:476, His-A:475, Glu-A:305, Leu-A:343, Met-A:340, Leu-A:339, Phe-A:356, Ala-A:302	
Eugenol (<i>Syzygium aromaticum</i> L.)	-6.3	0.000	Met-A:295, Thr-A:299, Leu-A:301, Ala-A:302, Met-A:340, Rhe-A:377, Leu-A:380, His-A:475, Gly-A:472, Met-A:336, Leu-A:298, Ile-A:376, Ile-A:373, Phe-A:356, Leu-A:476	



Tabel 4. Hasil Uji In Silico Senyawa Eugenol cengkeh, dengan Senyawa Pembanding dan Native Ligand Reseptor HER-2 dengan Metode Molekular Docking Autodock Vina

Ligan	binding affinity (kkl/mol)	RMSD (Å)	Residu Asam Amino	Interaksi Ikatan
Ligan Asli 3QS (Native Ligand)	-8,7	0.000	Lys-A:89, Gln-A:85, Leu-A:83, Ala-A:31, Val-A:18, Gly-A:13, Ala-A:144, Leu-A:134, Ile-A:10, His-A:84	
Eugenol (<i>Syzygium aromaticum</i> L.)	-6.3	0.000	Leu-A:83, Val-A:64, Aly-A:33, Asp-A:145, Phe-A:80, Ile-A:10, Val-A:18, Ala-A:31, Leu-A:134, Ala- A: 144	
<i>Trastuzumab</i> (Kontrol Positif)	-8,8	0.000	Lys-A:89, His-A:84, Ile- A:10, Lys- A:88	

Berdasarkan hasil uji dan visualisasi interaksi menunjukkan bahwa pada **tabel 2**. Sisi aktif makromolekul ER- α dari kanker payudara

yaitu terdapat 26 asam amino residu berupa Ser395, His398, Pro399, Gly400, Lys401, Arg412, Asp426, Met427, Leu429, Ala430,

Ser432, Ser433, Arg434, Arg436, Met437, Val458, Tyr459, Thr460, Phe461, Leu462, Ser463, Ser464, Leu469, Lys472, Asp473, His476. Residu asam amino dari ligan asli/*native ligand* yang berikatan dengan reseptor ER- α yaitu Ser-B:464, Ser-B:463, Arg-A:436, His-B:476, Lys-B:472, Met-A:437, Arg-A:434 sedangkan eugenol berikatan dengan residu Ser-A:433, Ser-B:463, Ala-A:430, Lys-B:472, Arg-A:434, Met-A:437 dan 4-Hidroksitamoksifen berikatan dengan Met-A:437, Lys-A:472, Arg-A:434, Arg-A:436. Dari **tabel 3**. Sisi aktif makromolekul ER- β dari kanker payudara yaitu terdapat 12 asam amino residu berupa Trp335, Met473, Leu476, Leu477, Met479, Cys481, Val484, Val485, Pro486, Val487, Tyr488, Asp489. Residu asam amino dari ligan asli/*native ligand* yang berikatan dengan reseptor ER- β yaitu Leu-A:298, Met-A:336, Leu-A:476, His-A:475, Glu-A:305, Leu-A:343, Met-A:340, Leu-A:339, Phe-A:356, Ala-A:302 sedangkan eugenol berikatan dengan residu Met-A:295, Thr-A:299, Leu-A:301, Ala-A:302, Met-A:340, Rhe-A:377, Leu-A:380, His-A:475, Gly-A:472, Met-A:336, Leu-A:298, Ile-A:376, Ile-A:373, Phe-A:356, Leu-A:476 dan 4-Hidroksitamoksifen berikatan dengan Tyr-A:488, Leu-A:477, Leu-A:476, Asp-A:489. Dan dari **tabel 4**. Sisi aktif makromolekul HER-2 dari kanker payudara yaitu terdapat 42 asam amino residu berupa Glu8, Lys9, Ile10, Gly11, Glu12, Gly13, Thr14, Tyr15, Gly16, Val17, Val18, Lys20, Ala31, Leu32, Lys34, Ile35, Val64, Leu78, Phe80, Glu81, Phe82, Leu83, His84, Gln85, Asp86, Lys89, His125, Asp127, Lys129, Gln131, Asn132, Leu134, Ala144, Asp145, Leu148, Ala149, Val154, Thr158, Glu162, Val163, Val164, Thr165. Residu asam amino dari ligan asli/*native ligand* yang berikatan dengan reseptor HER-2 yaitu Lys-A:89, Gln-A:85, Leu-A:83, Ala-A:31, Val-A:18, Gly-A:13, Ala-A:144, Leu-A:134, Ile-A:10, His-A:84 sedangkan eugenol berikatan dengan residu Leu-A:83, Val-A:64, Aly-A:33, Asp-A:145, Phe-A:80, Ile-A:10, Val-A:18, Ala-31, Leu-A:134, Ala- A: 144 dan trastuzumab berikatan dengan Lys-A:89, His-A:84, Ile-A:10, Lys-A:88. Hal ini menunjukkan bahwa dari ketiga tabel tersebut hampir semua residu asam amino dari ligan yang digunakan bekerja pada sisi aktif dari reseptor pada kanker payudara.

Obat 4-Hidroksitamoksifen dan trastuzumab sebagai kontrol positif

mendapatkan hasil binding affinity -6.4 dan -8.8 untuk reseptor ER- α dan HER-2. Hal tersebut menunjukkan bahwa senyawa eugenol memiliki hasil lebih rendah dari pada kedua pembanding pada reseptor tersebut. Sehingga eugenol tidak lebih berpotensi dibanding kontrol positif pada kedua reseptor. Eugenol sebagai senyawa identitas dalam cengkeh diprediksi memiliki potensi lebih dari kontrol positif 4-hidroksitamoksifen pada reseptor ER- β dengan hasil lebih tinggi dibanding ligan pembanding yang memiliki energi ikatan rendah sehingga dapat diprediksi eugenol memiliki aktivitas lebih potensial sebagai antikanker terhadap reseptor ER- β dibandingkan dengan ligan pembandingnya yaitu 4-hidroksitamoksifen secara *in silico*.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa ligan eugenol sebagai senyawa identitas dalam cengkeh berpotensi secara *in silico* sebagai antikanker terhadap reseptor ER- α , ER- β dan Her-2 pada kanker payudara dengan hasil interaksi diperoleh nilai RMSD 0,000 Å pada setiap reseptor dan *binding affinity* secara berturut-turut yaitu -5.7 kkal/mol, -6.3 kkal/mol, dan -6,3 kkal/mol

SARAN

Penelitian ini merupakan hasil identifikasi aktivitas biologis dari senyawa eugenol cengkeh dengan metode pemodelan terkomputerisasi. Sehingga perlu dilakukan uji *in vitro* dan *in vivo* untuk mengetahui aktivitas senyawa eugenol cengkeh terhadap kanker payudara.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Sharif. 2013. *Eugenol Triggers Apoptosis in Breast Cancer Cell Through E2F1/Survivin Down Regulation*. BMC Cancer. 13: 600.
- American Cancer Society. 2017. *Breast Cancer Treatment Guideline*. Atlanta: American Cancer Society.
- Anggorowati, L. 2013. Faktor Resiko Kanker Payudara Wanita. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*. Universitas Negeri Semarang. 8 (2) (2013) 121-126.

- Franklin, M. C., Carey, K. D., Vajdos, F.F., Leahy, D. J., Mdevos, A. M., dan Sliwskowski, M. X. 2004. *Insight into ErbB signaling from the structure of the ErbB2-pertuzumab complex*. *Cancer Cell*, 5: 317 -28.
- Ikeda K, Ogawa S, Tsukui T, Horie-Inoue K, Ouchi Y, Kato S, Muramatsu M, Inoue S. 2004. *Protein phosphatase 5 is a negative regulator of estrogen receptor-mediated transcription*. *Mol Endocrinol* 18: 1131-1143.
- Ladokun, O. A., Abiola, A., Okikiola, D., and Ayodeji, F. 2018. *GC-MS and Molecular Docking Studies of Hunteria umbellata Methanolic extract as a potent anti-diabetic*. Elsevier. 13: 1-8.
- Louie, G. V., Baiga, T. J., Bowman, M. E., Eduka, T. K., Taylor, J. H., Spassova, S. M., Pichersky, E., Noel, J. P. 2007. *Structure and Reaction Mechanism of Basil Eugenol Synthase*. *PLoS ONE* 2(10): e993.
- Lykkesfeldt, A. E., Madsen, M. W., dan Briand, P. 1994. *Altered Expression of Estrogen Regulated Genes in a Tamoxifen Resistant and ICI 164,384 and ICI 182,780 Sensitive Human Breast Cancer Cell Line, MCF7/TAMR-1*. *Cancer Research*, 54: 1587-1595.
- Prianto, H. Rurini, R. Unggul J. W. 2013. *Isolasi dan Karakterisasi dari Minyak Bunga Cengkeh (Syzigium aromaticum) Kering Hasil Destilasi Uap*. *Kimia Student Journal*. Universitas Brawijaya Malang. 1(2): 269-275.
- Pujiastuti, M. W. dan Sanjaya, I. G. M. 2017. *Penentuan Aktivitas Senyawa Turunan Mangiferin Sebagai Antidiabetes Pada Diabetes Melitus Tipe 2 Secara In Silico*. *UNESA Journal of Chemistry*. Volume 6 (3): 172:176.
- Ring, A., Dowset, M. 2004. *Mechanism of Tamoxifen Resistance*. *Endocrine Related Cancer*, 11: 643-648.
- Wind, N. S., dan Holen, I. 2011. *Multidrug Resistance in Breast Cancer: From In Vitro Models to Clinical Studies*. *International Journal of Breast Cancer*, 1-10.