

3305-14095-1-RV_MY

by - -

Submission date: 24-May-2023 07:32AM (UTC-0500)

Submission ID: 2100803848

File name: 3305-14095-1-RV_MY.pdf (446.69K)

Word count: 5223

Character count: 31493

In Silico ADME-T dan Molekular Docking Analog Tamoxifen Sebagai Kandidat Agen Terapi Kanker Payudara

In Silico ADME-T and Molecular Docking of Tamoxifen Analogues as Candidate for Breast Cancer Therapy Agents

ABSTRACT

Tamoxifen (TAM) as anti-breast cancer works with a dual mechanism of action: a competitor of 17 β -estradiol binds to estrogen receptors, and its active metabolites bind to DNA to initiate carcinogenesis. This work aims to study our designed TAM analogs' molecular interactions with the molecular target, estrogen- α , and to predict their ADME-T pharmacokinetics. The molecular docking of five TAM analogs was analyzed using PLANTS (Protein-Ligand Ant System) and pkCSM software to study the ADME-T profile. Each ligand (analog) was docked on estrogen receptor- α with PDB-ID 3ERT. The molecular docking method was validated against 4-hydroxytamoxifen with RMSD value of 1.6208 Å. The ChemPLP score (ΔG) for analog 1 was -101.34875 kcal/mol, equivalent to 4-hydroxytamoxifen, which is -101.3429 kcal/mol and demonstrated potential as a breast cancer therapeutic agent. However, the TAM analogs are predicted hepatotoxicity properties and are predicted to be mutagens. Therefore, more structural modifications with lower binding affinity to estrogen- α and minimal hepatotoxic properties are required.

Keywords: ADME-T, Breast Cancer, In Silico, Molecular Docking, Tamoxifen

ABSTRAK

Tamoxifen (TAM) sebagai anti-kanker payudara bekerja dengan dua mekanisme aksi, yaitu sebagai kompetitor 17 β -estradiol untuk berikatan dengan reseptor estrogen dan metabolit aktifnya sebagai karsinogenik yang menargetkan DNA sel kanker. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari interaksi molekular beberapa desain analog TAM terhadap reseptor target estrogen- α dan untuk memprediksi farmakokinetik ADME-T nya. Studi penambatan tingkat molekular kelima desain analog TAM dianalisis menggunakan PLANTS (*Protein-Ligand Ant System*) dan perangkat lunak pkCSM untuk mempelajari profil ADME-T. Setiap ligan ditambahkan pada reseptor estrogen- α dengan kode PDB-ID 3ERT. Validasi metode molekular docking terhadap 4-hidroxitamoxifen dengan nilai RMSD 1,6208 Å. Skor ChemPLP (ΔG) untuk Analog 1 sebesar -101,34875 kkal/mol yang ekuivalen dengan 4-hidroxitamoxifen yaitu sebesar -101,3429 kkal/mol. Kelima analog TAM berpotensi menjadi agen terapi kanker payudara. Meskipun demikian kelimanya bersifat hepatotoksik dan potensial mejadi mutagen. Sehingga dibutuhkan modifikasi struktur dengan energi afinitas yang lebih rendah terhadap estrogen- α dan tidak bersifat hepatotoksik.

Kata kunci: ADME-T, In Silico, Kanker Payudara, Molecular Docking, Tamoxifen

PENDAHULUAN

Saat ini kanker masih menjadi salah satu penyebab utama kematian di dunia. Penyakit ini tergolong pada penyakit tidak menular yang kasus barunya terus bertambah setiap tahunnya. Kanker payudara adalah tumor ganas pada sel jaringan payudara, yang dapat timbul dari komponen kelenjar (sel epitel dan lobulus) seperti jaringan lemak, pembuluh darah dan persarafan jaringan payudara (Sihite *et al.*, 2019). Pada tahun 2020, International Agency for Research on Cancer GLOBOCAN (Global Cancer Statistics) melaporkan bahwa kasus kanker payudara masih merupakan kanker terbanyak diderita perempuan di dunia. Dari data tersebut tercatat sekitar 65.858 kasus (16,6%) dari total 396.914 kasus kanker terjadi di Indonesia. Dalam lima tahun terakhir, sebanyak 160.653 pasien terdiagnosa kanker payudara di Indonesia. Total angka kematian akibat kanker di Indonesia mencapai 234.500 orang pada tahun 2020. Kanker Payudara merupakan jenis kanker paling mematikan pada perempuan (Agreno *et al.*, 2022).

Pengobatan utama kanker payudara adalah pembedahan dengan atau tanpa kemoterapi atau radioterapi, dilanjutkan dengan terapi hormon pada pasien dengan reseptor hormon positif. Tamoxifen adalah turunan trifeniletilena yang secara farmakologis diklasifikasikan sebagai modulator ER selektif (SERM), bertindak sebagai agonis di dalam rahim tetapi sebagai antagonis di payudara (Chang, 2012). Sejak disetujui pada tahun 1998, tamoxifen telah digunakan secara luas untuk mengobati kanker payudara dengan reseptor estrogen positif. Tamoxifen telah digunakan selama 40 tahun sebagai terapi endokrin untuk kanker payudara dengan reseptor estrogen positif pada wanita sebelum dan sesudah menopause. Ini

diberikan bersama dengan inhibitor aromatase, misal pada wanita pascamenopause, dengan anastrozole dan letrozole sebagai terapi tambahan. Selain itu, juga digunakan untuk mengobati kanker payudara pria (Ali *et al.*, 2016).

Sekitar 50% dari kanker payudara positif reseptor estrogen tidak dapat disembuhkan dengan terapi endokrin karena resistensi intrinsik. Tamoxifen yang diberikan kepada wanita lainnya juga menunjukkan resistensi setelah 3 sampai 5 tahun pemakaian. Tamoxifen bertindak sebagai agonis di endometrium dan mengonsumsi tamoxifen dalam waktu lama menyebabkan kanker endometrium (Ali *et al.*, 2016). Studi menunjukkan efektifitas dan potensi Tamoxifen mulai mengkhawatirkan dikarenakan efek samping seperti kanker endometrium (Dela *et al.*, 2022), sehingga dirasa perlu dilakukan eksplorasi obat kanker payudara baru dengan potensi dan efektifitas yang lebih baik dan efek samping yang lebih rendah dari Tamoksifen.

Baru-baru ini telah dikembangkan penelitian *in silico* dengan metode *molecular docking* yang merupakan pemodelan molekul untuk mendesain obat melalui simulasi secara komputasi. Dengan metode ini jenis, model, dan stabilitas ikatan pada kompleks ligan-reseptor dapat diprediksi sehingga dapat mengefisienkan waktu dan biaya dalam proses penemuan dan pengembangan obat baru dengan aktivitas yang lebih baik. Keuntungan dari metode *in silico* adalah murah dan hasilnya cepat didapat (Pratama *et al.*, 2017; Pinzi & Rastelli, 2019). Beberapa studi telah dikembangkan dalam mengeksplorasi kandidat obat kanker payudara positif estrogen α dengan pendekatan *in silico* (Dermawan *et al.*, 2019; Dela Cruz *et al.*, 2022; Shah *et al.*, 2022). Dalam studi ini tim riset kami mendisain kandidat obat kanker payudara baru turunan Tamoksifen terhalogenasi yang merupakan kandidat baru yang dapat disintesis secara kimiawi.

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari interaksi molekuler beberapa desain analog TAM terhadap reseptor target estrogen- α dan untuk memprediksi farmakokinetik ADME-T nya. Dengan menggunakan metode *in silico* dapat dilakukan simulasi pengikatan ligan yang didesain dengan molekuler target dalam hal ini estrogen- α melalui nilai afinitas ikatannya yang selanjutnya dapat diprediksi profil farmakokinetik (ADME-T) ligan untuk selanjutnya dianalisis kemampuannya menjadi agen terapi kanker payudara.

METODE

Desain

Metode penelitian ini adalah eksperimental secara kualitatif yang memanfaatkan teknologi kimia komputasi dan *database* menggunakan program *PLANTS*.

24

Alat dan Bahan

Penelitian ini menggunakan perangkat keras (*Hardware*) dengan spesifikasi sebagai berikut: Laptop DESKTOP-NNB6TP3 dengan spesifikasi *processor* Intel(R) Celeron(R) CPU 1005M @ 1.90GHz, RAM 4.00 GB, dengan sistem operasi windows 10Pro 64-bit. Selanjutnya data diproses dan dianalisis menggunakan beberapa perangkat lunak (*software*) di antaranya *PLANTS*, *Yasara*, *LigPlot*, *Marvinsketch* 5.2, *Marvinspace*, *Marvinview*, *pkCSM*, *Ecosar*.

Penyiapan Struktur Reseptor Estrogen- α

Reseptor estrogen- α dengan PDB-ID: 3ERT diunduh melalui situs <http://www.rcsb.org/pdb> sebagai *Protein Data Bank* (PDB). File yang telah diunduh kemudian dipreparasi kembali menggunakan perangkat lunak *Yasara*. Hilangkan ligan alami dan molekul airnya kemudian disimpan dalam bentuk format *.pdb dan didapatkan dua file yaitu *protein.mol2* dan *ref_logan.mol2* (Amin & Indra, 2013).

Penyiapan Ligan Alami

Ligan alami diperoleh dari file reseptor estrogen- α yang telah diunduh sebelumnya dan dipreparasi terlebih dahulu dengan menggunakan *Yasara*, dengan cara dibuat terlebih dahulu *yasara object*, buat protein, buat *ref_ligand* lalu buat ligan. Hilangkan molekul air dan dipisahkan dengan reseptornya lalu disimpan dengan format *.pdb (Pannindriya *et al.*, 2021).

Penyiapan Ligan Tamoxifen dan Analog Tamoxifen

Preparasi gambar struktur ligan Tamoksifen (National Center for Biotechnology Information, 2023) dan lima desain analog Tamoksifen digambar dengan menggunakan *software MarvinSketch* 5.2 lalu dilakukan protonasi pada pH 7.4. Disimpan dengan format *.mrv. Setelahnya dibuat konformasi sebanyak 10 konformer dan disimpan file dalam bentuk *.mol2 (Amin & Indra, 2013).

Validasi Metode Docking

Ligan alami yang telah disiapkan kemudian dioptimalkan dengan reseptor yang digunakan oleh program PLANTS untuk mendapatkan skor docking. Skor terbaik dipilih dan kemudian disimpan dalam file.mol2. Kemudian nilai RMSD dianalisis dengan software YASARA (Faridah *et al.*, 2019). Nilai RMSD yang memenuhi kriteria lebih kecil dari 2 Å. Hal ini menunjukkan bahwa semakin kecil kesalahan dalam perhitungan, sehingga perhitungan semakin akurat. Namun jika nilai RMSD lebih besar dari 2 Å menunjukkan adanya penyimpangan yang signifikan dari hasil perhitungan, sehingga hasil *in silico* interaksi ligan-reseptor tidak dapat digunakan untuk perbandingan (Dwitiyanti *et al.*, 2018; Manalu, 2021).

Simulasi Docking Reseptor Estrogen- α dan Ligan Uji

Simulasi docking dilakukan dengan masing-masing ligan uji (analog TAM) dibandingkan dengan ligan alami TAM menggunakan program PLANTS. Proses docking dalam studi ini menggunakan algoritma *ant colony optimization* (ACO) yang dikombinasikan dengan algoritma *Local Search*. Software PLANTS. Proses docking dalam studi ini menggunakan algoritma *ant colony optimization* (ACO) yang dikombinasikan dengan algoritma *Local Search*. Simulasi docking dilakukan dengan *blind docking* (ligan mendekati reseptor di daerah manapun) dengan proses docking yang dilakukan bersifat semi-fleksibel dimana reseptor yang digunakan bersifat rigid dan ligan bersifat fleksibel. Setelah struktur protein target dan ligan diperoleh selanjutnya dilakukan simulasi docking menggunakan software PLANTS. Pada penelitian ini dilakukan sepuluh kali docking pada tiap ligan untuk mendapatkan nilai energi bebas Gibbs (ΔG) terbaik dalam bentuk *score docking* ligan uji (Korb *et al.*, 2007; Syahputra *et al.*, 2014; Faridah *et al.*, 2019).

Visualisasi Hasil Docking

Hasil docking masing-masing analog TAM divisualisasi dan diinterpretasi dengan program Ligplot yang menggambarkan interaksi yang terjadi antara ligan dan reseptor target (Faridah *et al.*, 2019).

Analisis Data

Data dianalisis berdasarkan nilai energi bebas Gibbs (ΔG) yang diperoleh dari simulasi docking reseptor estrogen- α dan ligan uji. Nilai ΔG tersebut menunjukkan besarnya afinitas antara analog TAM dengan reseptor estrogen- α (Krihariyani *et al.*, 2021).

Prediksi ADME dan Toksisitas Senyawa

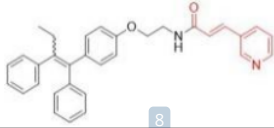
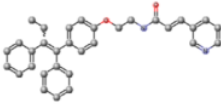
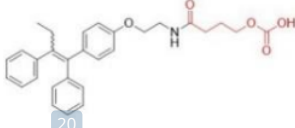
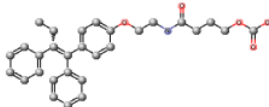
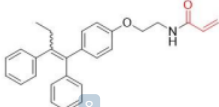
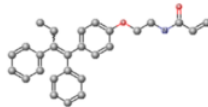
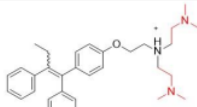
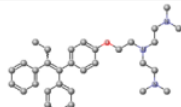
Dalam studi ini, analisis farmakokinetik Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, dan Ekskresi (ADME) analog TAM diprediksi menggunakan *pkCSM online tool* dengan cara mengcopy *Canonical SMILES* struktur ligan uji lalu diinput ke dalam *pkCSM online tool* (Pires *et al.*, 2015).

HASIL

Metabolit Tamoksifen (4-Hydroxitamoxifen) dan lima desain analognya merupakan ligan yang docking dengan reseptor target estrogen α yang struktur 2D dan 3D nya sebagaimana yang tergambar pada Tabel 1.

Tabel 1. Struktur Tamoksifen dan Analog Tamoksifen

Struktur 2D	Struktur 3D
4-Hydroxitamoxifen (ligan alami)	
(2E)-N-(2-(4-(1,2-diphenylbut-1-en-1-yl)phenoxy)ethyl)-3-(3-iodophenyl)acrylamide (Analog TAM 1)	

	
(E)-N-(2-(4-((E)-1,2-diphenylbut-1-en-1-yl)phenoxy)ethyl)-3-(pyridin-3-yl)acrylamide (Analog TAM 2)	
	
4-((2-(4-(1,2-diphenylbut-1-en-1-yl)phenoxy)ethyl)amino)-4-oxobutyl hydrogen carbonate (Analog TAM 3)	
	
N-(2-(4-(1,2-diphenylbut-1-en-1-yl)phenoxy)ethyl)acrylamide (Analog TAM 4)	
	
2-(dimethylamino)-N-(2-(dimethylamino)ethyl)-N-(2-(4-(1,2-diphenylbut-1-en-1-yl)phenoxy)ethyl)ethan-1-aminium (Analog TAM 5)	

Validasi metode dan *re-docking* antara reseptor estrogen α dan ligan alami (4-Hydroxitamoxifen) dan lima desain analog TAM dalam studi ini menggunakan perangkat lunak PLANTS dan YASARA. Proses validasi metode dan *re-docking* tersebut mendapatkan *binding site default* dan nilai RMSD (*Root Mean Square Deviation*) sebagaimana tergambar pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Validasi Metode Docking Menggunakan YASARA

Reseptor	3ERT
Ligan Alami	4-Hydroxitamoxifen
Metode Docking	YASARA
RMSD	1,6208 Å

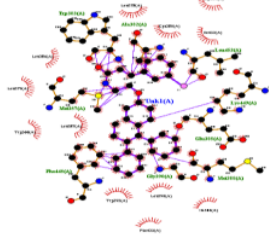
Hasil simulasi docking struktur uji dengan reseptor estrogen- α dan nilai skor dockingnya diperoleh konformasi ligan dengan energi terkecil yang dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Simulasi *Molecular Docking* Menggunakan PLANTS

No	Ligan	Skor ChemPLP / ΔG (kkal/mol)
1	4-Hydroxitamoxifen	-101,34290
2	Analog TAM 1	-101,34875
3	Analog TAM 2	-96,53399
4	Analog TAM 3	-92,22959
5	Analog TAM 4	-82,01501
6	Analog TAM 5	-101,27318

Tabel 4 menunjukkan hasil docking molekuler yang divisualisasikan dengan *software* ligplot. Visualisasi ini menunjukkan interaksi pada kompleks ligan-reseptor estrogen α .

Tabel 4. Interaksi dengan Asam Amino Menggunakan Ligplot

No.	Nama Ligan	Ik. Hidrogen	Interaksi Hifrofobik	Jarak Ik Hidrogen (Å)
1.	4-Hydroxitamoxifen	GLU385 LEU379 LEU387 LYS449 PHE445	ALA361 ALA382 GLY390 ILE452 ILE514 LEU453 LEU384 MET357 MET388 TRP360 TRP383	-
2.	Analog TAM 1 	ALA382 GLU385 GLY390 LEU453 LYS449 MET357 MET388 PHE445 TRP383	CYS351 GLY457 ILE452 ILE514 LEU375 LEU354 LEU379 LEU387 LEU391 PHE435 TRP393 TRP360	-
3.	Analog TAM 2	ALA382 GLU385 GLY390 LYS449 MET357 MET388 PHE445 SER456	CYS381 GLY457 ILE452 ILE514 LEU391 LEU375 LEU453 LEU379 LEU357 PHE435 TRP393 TRP383 TRP360	2,35
4.	Analog TAM 3	ALA382 GLU385 GLY390 ILE389 LYS449 MET357 MET388 PHE445 SER456	CYS381 GLY457 ILE514 LEU453 LEU379 LEU387 LEU375 LEU391 PHE435 TRP393 TRP383 TRP360	2,33
5.	Analog TAM 4	GLU385 LEU387 LEU435 LYS449 TRP360	ALA382 ALA361 GLY390 ILE452 ILE524 LEU384 LEU379	-

6.	Analog TAM 5	ALA382 ILE514 LEU387	MET357	-
			MET388	
			PHE445	
			PHE435	
			TRP383	
			GLU380	
			GLU385	
			GLY390	
			ILE452	
			LEU378	
			LEU453	
			LYS449	
			MET357	
			MET388	
			TRP383	
			TRP393	
			VAL392	

Prediksi profil fisikokimia analog TAM meliputi seperti Berat molekul (BM), logaritma koefisien partisi oktanol/air (log *P*), *Hydrogen Bond Acceptors* (HBA), dan *Hydrogen Bond Donors* (HBD) dalam studi ini menggunakan *pkCSM online tool* (Krihariyani *et al.*, 2019). Nilai prediksi profil fisikokimia analog TAM tergambar pada **Tabel 5**.

Tabel 5. Prediksi Profil Fisikokimia Tamoxifen dan Analognya Menggunakan *pkCSM online tool*.

BM = Berat Molekul; Log *P* = Logaritma Koefisien Partisi Oktanol/Air; HBA = *Hydrogen Bond Acceptors*; HBD = *Hydrogen Bond Donors*

Nama Senyawa	BM (g/mol)	Log <i>P</i>	HBA	HBD
Tamoxifen	371,524	5,9961	2	0
4-Hidroksitamoxifen	387,523	5,7017	3	1
Analog TAM 1	599,512	7,8687	2	1
Analog TAM 2	474,604	6,6591	3	1
Analog TAM 3	473,569	6,0255	4	2
Analog TAM 4	397,518	5,7367	2	1
Analog TAM 5	486,724	4,4426	3	1

Prediksi farmakokinetika profil absorpsi TAM, ligan alami, dan analog TAM dengan menggunakan *pkCSM online tool* meliputi kelarutan dalam air, permeabilitas kulit dan kemungkinan menjadi substrat P-glikoprotein tergambar pada **Tabel 6**.

Tabel 6. Prediski Profil Absorpsi Tamoxifen dan Analognya Menggunakan *pkCSM Online Tool*

Senyawa	Kelarutan dalam air (Log mol/L)	Substrat P- glikoprotein	Permeabilitas kulit log <i>K_p</i> (cm/jam)
Tamoxifen	-5,929	Ya	-2,737
4-Hidroksitamoxifen	-4,913	Ya	-2,741
Analog TAM 1	-5,831	Ya	-2,735
Analog TAM 2	-6,279	Ya	-2,735
Analog TAM 3	-4,685	Ya	-2,735
Analog TAM 4	-6,407	Ya	-2,734
Analog TAM 5	-4,738	Ya	-2,735

Prediksi farmakokinetika profil distribusi TAM, ligan alami, dan analog TAM dengan menggunakan *pkCSM online tool* meliputi Volume distribusi (VDss) dan *blood-brain barrier* (BBB) tergambar pada **Tabel 7**.

Tabel 7. Prediksi Profil Distribusi Tamoxifen dan Analognya Menggunakan *pkCSM Online Tool*

Senyawa	VDss (log L/kg)	BBB (log BB)
Tamoxifen	0,830	1,329
4-Hidroksitamoxifen	0,178	-0,341
Analog TAM 1	-0,791	-0,488

Analog TAM 2	-0,525	-0,631
Analog TAM 3	-1,247	-0,667
Analog TAM 4	-0,072	-0,477
Analog TAM 5	1,028	1,649

Prediksi farmakokinetika profil metabolisme TAM, ligan alami, dan analog TAM dengan menggunakan *pkCSM online tool* tergambar pada **Tabel 8**.

Tabel 8. Prediksi Profil Metabolisme Tamoxifen dan Analognya Menggunakan *pkCSM Online Tool*

Senyawa	Substrat CYP2D6	Substrat CYP3A4	Inhibitor CYP1A2	Inhibitor CYP2C19	Inhibitor CYP2C9	Inhibitor CYP2D6	Inhibitor CYP3A4
Tamoxifen	Bukan	Ya	Ya	Bukan	Bukan	Ya	Bukan
4-Hidroksitamoxifen	Bukan	Ya	Bukan	Bukan	Bukan	Ya	Ya
Analog TAM 1	Bukan	Ya	Bukan	Ya	Bukan	Bukan	Bukan
Analog TAM 2	Bukan	Ya	Bukan	Ya	Ya	Bukan	Ya
Analog TAM 3	Bukan	Ya	Bukan	Bukan	Ya	Bukan	Bukan
Analog TAM 4	Bukan	Ya	Ya	Ya	Ya	Bukan	Ya
Analog TAM 5	Bukan	Ya	Ya	Ya	Bukan	Ya	Bukan

Prediksi farmakokinetika profil ekskresi TAM, ligan alami, dan analog TAM dengan menggunakan *pkCSM online tool* meliputi klirens total dan kemungkinan sebagai substrat OCT2 tergambar pada **Tabel 9**.

Tabel 9. Prediksi Profil Ekskresi Tamoxifen dan Analognya Menggunakan *pkCSM Online Tool*

Senyawa	Klirens Total (log mL/min/kg)	Substrat OCT2
Tamoxifen	0,556	Bukan
4-Hidroksitamoxifen	0,582	Bukan
Analog TAM 1	-0,499	Bukan
Analog TAM 2	0,416	Bukan
Analog TAM 3	0,436	Bukan
Analog TAM 4	0,315	Bukan
Analog TAM 5	0,720	Bukan

Prediksi profil toksisitas TAM, ligan alami, dan analog TAM dengan menggunakan *pkCSM online tool* meliputi potensi senyawa sebagai mutagenik menggunakan bakteri (toksisitas Ames), potensi hepatotoksitas, dan LD₅₀ akut tergambar pada **Tabel 10**.

Tabel 10. Prediksi Profil Toksisitas Tamoxifen dan Analognya Menggunakan *pkCSM online tool*

Senyawa	Toksisitas Ames	Hepatotoksitas	LD ₅₀ akut (mol/kg) (oral)
Tamoxifen	Ya	Bukan	2,285
4-Hidroksitamoxifen	Ya	Bukan	2,175
Analog TAM 1	Ya	Ya	2,988
Analog TAM 2	Bukan	Ya	2,924
Analog TAM 3	Bukan	Ya	2,580
Analog TAM 4	Ya	Ya	2,656
Analog TAM 5	Ya	Ya	2,398

PEMBAHASAN

Tamoxifen merupakan terapi hormon standar pada pasien kanker payudara dengan overekspresi reseptor estrogen dan telah terbukti memperpanjang kelangsungan hidup mereka melalui efek antagonis estrogen pada jaringan payudara. Tamoxifen dan metabolit aktifnya, 4-hidroksitamoxifen bertindak sebagai antagonis estrogen atau agonis dan secara kompetitif menghambat pengikatan estadiol ke reseptor estrogen (ER) dalam mekanisme *dose-dependent* (Agreno *et al.*, 2022; Pawlik *et al.*, 2016).

Lima desain analog TAM sebagaimana tergambar pada **Tabel 1** dianalisis afinitasnya terhadap reseptor estrogen- α menggunakan metode *in silico*. Penambahan molekular analog TAM tersebut terhadap reseptor target menggunakan PDB-ID 3ERT. Validasi metode dan *re-docking* menggunakan perangkat lunak PLANTS dan YASARA untuk mendapatkan *binding site default* dan nilai RMSD (*Root Mean Square Deviation*) dari reseptor dan ligan alami (**Tabel 2**). Hasil *binding site* dari reseptor estrogen- α yang diperoleh yaitu koordinat x, y, dan z = 31,5746; -1,59038; 25,5995 dan radiusnya sebesar 12,8348 Å.

1 Setelah didapatkan nilai *binding site default*, nilai tersebut lalu digunakan dalam *virtual screening* untuk 5 analog TAM untuk menemukan analog terbaik yang dianalisis berdasarkan skor *ChemPLP* terbaik / nilai energi bebas (ΔG) terkecil. Hasil validasi menunjukkan bahwa nilai RMSD metode docking kami sebesar 1,6208 Å. Nilai RMSD lebih kecil dari 2 Å menunjukkan bahwa semakin kecil kesalahan dalam perhitungan, sehingga perhitungan semakin akurat. Namun jika nilai RMSD lebih besar dari 2 Å menunjukkan adanya penyimpangan yang signifikan dari hasil perhitungan, sehingga hasil *in silico* interaksi ligan-reseptor tidak dapat digunakan untuk perbandingan (Dwitiyanti *et al.*, 2018; Manalu, 2021). Jika nilai RMSD ditemukan berada dalam kisaran nilai tersebut, proses validasi metode dapat dilanjutkan dan digunakan untuk *virtual screening* dari 5 analog TAM.

Jika pada tahap validasi metode dapat diterima, selanjutnya masuk ke tahap simulasi *docking molekuler* yaitu *virtual screening*. Pada tahap ini tujuannya adalah untuk mendapatkan skor *ChemPLP* (ΔG) berdasarkan interaksi antara ligan dan reseptor. Reseptor dan *binding site* yang digunakan adalah reseptor dan *binding site* yang sama dalam validasi. Ligan yang digunakan adalah lima analog TAM yang didesain dan senyawa pembanding yang dalam hal ini adalah 4-hidroksitamoksifen yang merupakan metabolit aktif dari senyawa (Dwitiyanti *et al.*, 2018). Berdasarkan hasil simulasi *docking* struktur uji dengan reseptor estrogen- α yang diperoleh dari 5 ligan uji (Tabel 3), nilai skor terendah terdapat pada ligan 1 dengan nilai sebesar -101,34875 kkal/mol sedangkan nilai skor ligan pembandingnya sebesar -101,3429 kkal/mol. Hal ini menunjukkan bahwa interaksi antara ligan 1 dan reseptor estrogen- α ekuivalen dengan ligan pembanding serta memiliki potensi sebagai agen terapi kanker payudara.

1 Selanjutnya hasil dari *docking molekuler* divisualisasikan menggunakan *software* ligplot. Visualisasi menunjukkan interaksi yang terjadi pada kompleks ligan-protein. Interaksi dalam ligan-reseptor dapat berupa ikatan kovalen, ion, hidrogen, ion-dipol, dipol-dipol, *van der waals*, interaksi hidrofobik, dan transfer muatan. Dari Tabel 4 dapat dilihat bahwa interaksi antara reseptor estrogen- α dengan analog TAM 1 melalui ikatan hidrogen dengan ALA382, GLU385, GLY390, LEU453, LYS449, MET357, MET388, PHE445, dan TRP383. Tiga interaksi ikatan hidrogen dengan GLU385, LYS449, dan PHE445 pada reseptor estrogen- α sebagaimana interaksi antara ligan alami dengan reseptor target. Hal ini menandakan bahwa sisi aktif dari ligan alami dan analog TAM 1 menempati sisi aktif yang sama.

Berdasarkan hasil analisis dengan *pkCSM online tool* (Tabel 5) diketahui bahwa kelima analog TAM tersebut memenuhi hukum 5 lipinski walaupun ada ligan yang menunjukkan BM diatas 500 g/mol. Berat molekul suatu senyawa yang lebih besar dari 500 g/mol akan lebih sulit menembus membran sel. Selanjutnya adalah hasil prediksi nilai Log *P* kelima analog TAM menggunakan *pkCSM online tool* diperoleh hanya analog TAM 5 yang sesuai karena memiliki nilai Log *P* kurang dari 5. Nilai Log *P* menyatakan koefisien kelarutan lemak/air, yang berkisar dari -0,4 hingga 5. Semakin tinggi nilai Log *P*, semakin bersifat hidrofobik molekul tersebut. Selanjutnya adalah jumlah donor dan akseptor ikatan hidrogen, dimana kesemua analog TAM memenuhi persyaratan (persyaratan HBA < 10 dan HBD < 5), karena nilai HBA-nya berada pada rentang 2 sampai 4 dan nilai HBD-nya berada pada rentang 1 sampai 2 yang memenuhi persyaratan kurang dari 5 (Syahputra *et al.*, 2014).

Prediksi farmakokinetika absorpsi senyawa dengan menggunakan *pkCSM online tool* memiliki 3 parameter yaitu kelarutan dalam air, P-glikoprotein substrat, dan permeabilitas kulit log *K_p*. Kelarutan dalam air menggambarkan kelarutan suatu molekul dalam air pada suhu 25°C. Obat yang larut dalam lemak kurang diserap dengan baik dibandingkan dengan obat yang larut dalam air, terutama bila diminum secara oral. Senyawa dengan skor kelarutan air kurang dari -6 menunjukkan kelarutan yang rendah. P-glikoprotein (Pgp) adalah glikoprotein transmembran transporter pengikat ATP (transporter ABC) yang dapat mengeluarkan obat atau benda asing xenobiotik lain dari dalam sel (Han *et al.*, 2019). Permeabilitas kulit merupakan aspek penting dari persyaratan kinerja produk dan menarik dalam pengembangan sistem penghantaran obat transdermal. Suatu senyawa dianggap memiliki permeabilitas kulit yang relatif rendah jika log *K_p* lebih besar dari -2,5 cm/jam. Senyawa dengan nilai permeabilitas kulit yang baik berkisar antara -2,7 hingga -3,4 cm/jam (Pires *et al.*, 2015). Dari Tabel 6 dapat dilihat bahwa analog TAM 1, 3, dan 5 memiliki kelarutan lebih besar dari -6, sedangkan analog TAM 2 dan 4 lebih kecil dari 5. Hasil ini menunjukkan bahwa analog TAM 2 dan 4 akan sulit menembus membran sel karena sangat hidrofobik sebaliknya untuk ketiga analog TAM yang lain. Kelima analog TAM merupakan substrat Pgp dengan nilai Log *K_p* lebih kecil dari -2,5 sehingga diprediksi memiliki permeabilitas kulit yang baik (Abdullah *et al.*, 2022; Maftucha *et al.*, 2022).

5 Prediksi farmakokinetik distribusi senyawa analog tamoxifen yang dilakukan dengan menggunakan *pkCSM online tool* memiliki 2 parameter yaitu VDss dan BBB. Volume distribusi (VDss) adalah merupakan parameter yang dapat menggambarkan distribusi obat dalam berbagai jaringan dalam tubuh pasien. Semakin tinggi nilai VDss, maka semakin banyak obat yang didistribusikan di jaringan daripada di plasma. Senyawa dikatakan memiliki volume distribusi yang rendah jika kurang dari 0,71 L/kg

(log VDss < -0,15) dan tinggi jika lebih besar dari 2,81 L/kg (log VDss > 0,45) (Han *et al.*, 2019; Pires *et al.*, 2015). BBB (*blood-brain barrier*) mengacu pada kemampuan obat untuk mencapai otak yang membantu mengurangi efek samping dan toksisitas atau meningkatkan potensi aktivitas farmakologis obat. Senyawa dengan logBB lebih dari 0,3 diprediksi mudah melewati sawar darah otak, sementara molekul dengan logBB kurang -1 menunjukkan bahwa molekul obat tersebut sukar menembus sawar otak (Pires *et al.*, 2015; Nursanti, 2019; Krihariyani *et al.*, 2020). Berdasarkan Tabel 7 hanya Tamoxifen dan Analog TAM 5 yang memiliki nilai VDss berada diatas 0,45 dan nilai BBB (log BB) diatas 0,3 sehingga dapat diprediksi bahwa hanya senyawa tersebut yang dapat terdistribusi baik pada jaringan tubuh dan dapat dengan mudah menembus sawar darah otak.

Diketahui bahwa sebagian besar reaksi metabolisme melibatkan proses oksidasi. Sitokrom P450 adalah enzim detoksifikasi penting dalam tubuh dan ditemukan terutama di hati. Sitokrom P450 bertanggung jawab atas metabolisme banyak obat, tetapi penghambatan P450 dapat mengubah farmakokinetik obat dalam tubuh secara signifikan. Penghambatan P450 ini adalah salah satu penyebab utama interaksi obat, yang menyebabkan efek samping toksik atau reaksi obat yang merugikan karena penurunan klirens dan akumulasi obat atau metabolitnya (Pires *et al.*, 2015; Krihariyani *et al.*, 2020; Apriali *et al.*, 2022). Dua sub tipe sitokrom P450 yang utama adalah CYP2D6 dan CYP3A4. Berdasarkan Tabel 8 bisa dilihat bahwa semua ligan tidak termasuk substrat CYP2D6 dan termasuk substrat CYP3A4 dan ligan-ligan tersebut terlibat dalam sitokrom P450 sub tipe CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6 dan CYP3A4. Hal ini menunjukkan bahwa TAM, 4-hidroksitamoxifen, analog 1-5 diprediksi dapat dimetabolisme di hati, sehingga dapat menurunkan kadar obat dalam darah dan meningkatkan proses metabolisme di hati sehingga pada penggunaan jangka panjang terprediksi ligan-ligan tersebut dapat meningkatkan penyakit gangguan hati. Tamoxifen termasuk prodrug yang diaktifasi menjadi 4-hidroksitamoxifen setelah dimetabolisme di hati. Dikarenakan semua analog TAM diprediksi akan dimetabolisme di hati sehingga kadar zat aktif obat akan meningkat yang akan efek samping toksik dan reaksi obat yang merugikan bagi pasien karena kadar metabolit obat yang aktif akan meningkat di darah.

Prediksi farmakokinetik ekskresi senyawa analog tamoxifen yang dilakukan dengan menggunakan pkCSM online tool memiliki 2 parameter yaitu Klirens total dan substrat OCT2. CLTOT adalah kombinasi dari *hepatic clearance* (metabolisme di hati dan empedu) dan *renal clearance* (ekskresi melalui ginjal). Ini terkait dengan bioavailabilitas dan penting dalam menentukan tingkat dosis untuk mencapai konsentrasi *steady-state*. *Organic Cation Transporter 2* (OCT2) adalah transporter serapan ginjal yang berperan penting dalam distribusi dan eliminasi obat dan senyawa ginjal endogen (Krihariyani *et al.*, 2019; Nursanti, 2019). Berdasarkan Tabel 9, Analog TAM 5 merupakan senyawa dengan total klirens yang paling tinggi sehingga senyawa ini yang paling cepat diekskresikan dari tubuh, namun senyawa asli tamoxifen memiliki nilai CLTOT yang lebih tinggi dibandingkan Analog TAM yg lain dan semua senyawa tidak bekerja pada substrat OCT2.

Prediksi toksisitas suatu senyawa merupakan bagian penting dari proses pengembangan desain obat. Penilaian toksisitas berbasis komputer tidak hanya lebih cepat daripada menentukan dosis racun pada hewan, tetapi juga dapat membantu mengurangi jumlah penggunaan hewan uji. Penentuan toksisitas suatu senyawa dapat dilakukan dengan menggunakan uji toksisitas Ames. Uji toksisitas Ames adalah metode yang digunakan untuk menilai senyawa yang berpotensi mutagenik menggunakan bakteri (Krihariyani *et al.*, 2020). Hasil tes positif menunjukkan bahwa senyawa tersebut berpotensi mutagenik dan karsinogen. Dosis letal oral 50% atau LD50 adalah tolak ukur kuantitatif standar yang digunakan untuk mengukur kisaran dosis letal dalam pengujian toksisitas obat akut yang diberikan secara oral. Semakin tinggi nilai LD50 maka toksisitas suatu senyawa semakin rendah. Sebaliknya, semakin rendah LD50 senyawa uji maka semakin toksik dan berbahaya senyawa tersebut (Astuty & Komari, 2022; Nursanti *et al.*, 2022). Berdasarkan Tabel 10 dapat dilihat bahwa semua senyawa uji bersifat hepatotoksik yang diprediksi dapat memberikan efek kerusakan pada hati. Analog TAM 2 dan 3 diprediksi tidak bersifat mutagenik. Berdasarkan nilai LD50 diprediksi bahwa semua Analog TAM termasuk kelas toksisitas 5 dan mempunyai efek toksisitas yang rendah atau ringan.

KESIMPULAN

Sifat fisikokimia, farmakokinetik, dan toksisitas lima desain analog TAM menggunakan metode *in silico* menunjukkan hasil bahwa kesemuanya merupakan substrat Pgp, dengan lipofilisitas yang besar, tidak dapat menembus sawar darah otak kecuali analog TAM 5, termasuk substrat CYP3A4 dan tidak termasuk substrat CYP2D6 yang diprediksi dimetabolisme di hepar, bersifat hepatotoksik dengan efek toksisitas yang relatif ringan. Berdasarkan uji *in silico* Analog TAM 1 memiliki afinitas ikatan yang ekuivalen dengan 4-hidroksitamoxifen terhadap estrogen- α . Ikatan hidrogen antara analog TAM 1 dengan sisi aktif molekular target yang sama dengan senyawa pembanding, yaitu GLU385, LYS449, dan PHE445.

Berdasarkan hal tersebut desain analog TAM berpotensi sebagai agen terapi kanker payudara. Meskipun demikian modifikasi struktur masih dibutuhkan untuk mendapatkan analog TAM dengan energi afinitas yang lebih rendah terhadap estrogen- α , efek samping yang lebih ringan, dan tidak bersifat hepatotoksik.

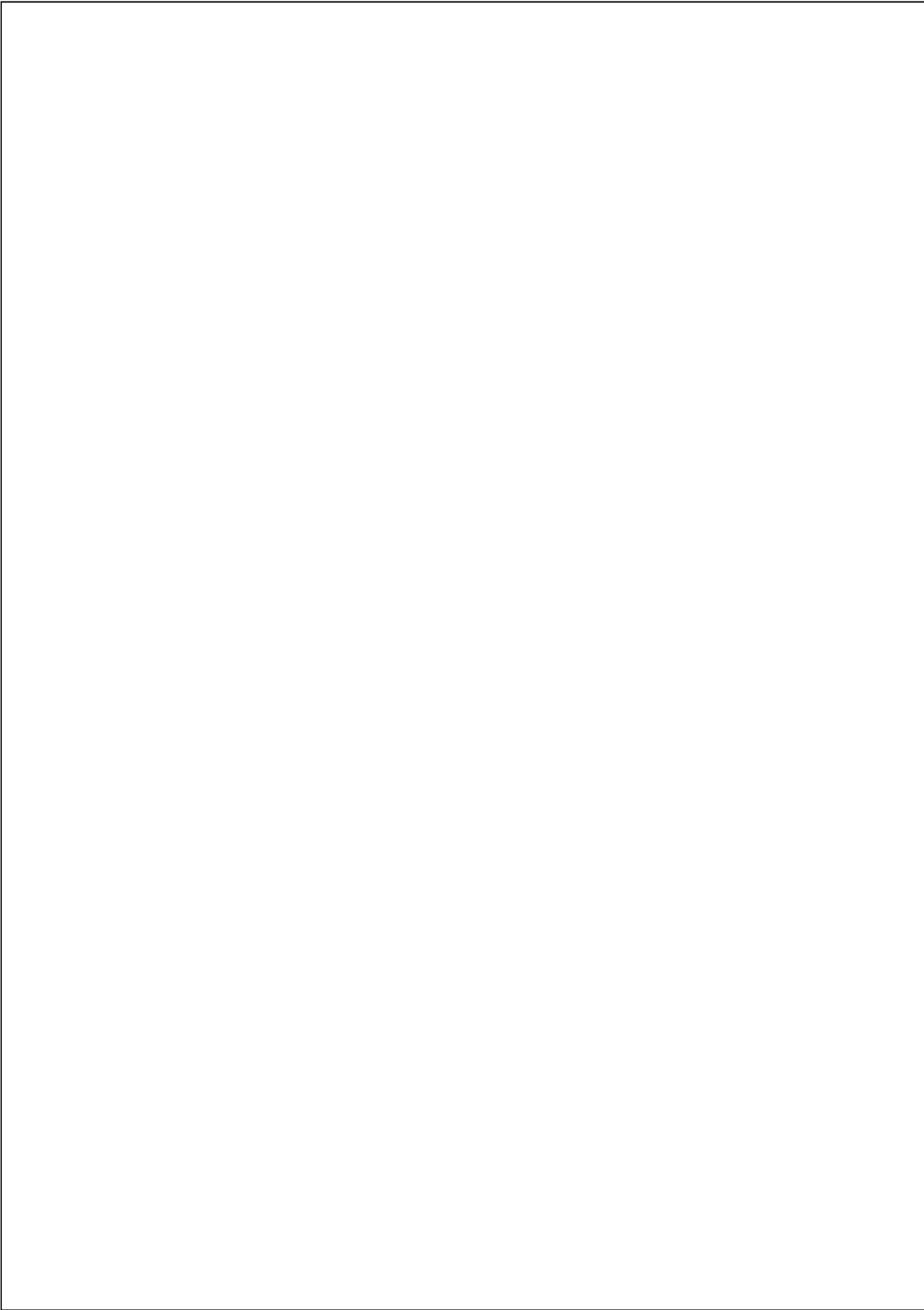
UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada DRTPM Kemenristek DIKTI atas pendanaan Hibah Multi Tahun Skema Penelitian Dasar Kompetitif Nasional (PDKN) Tahun 2022.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah S.S., Putra P.P., Antasionasti I., Rundengan G., Suoth E.J., Abdullah R.P.I. and Abdullah F. 2022. *Analisis Sifat Fisikokimia, Farmakokinetik dan Toksikologi pada Pericarpium Pala [Myristica fragrans] Secara Artificial Intelligence*. Chemistry Progress, 14: 81-92.
- Agreno M., Darmi N.F., Ismy J., Erdani F. and Hidayat I. 2022. *Pengaruh Periode Penggunaan Tamoxifen Terhadap Kejadian Endometriosis Pada Penderita Kanker Payudara*. Journal of The Indonesian Medical Association, 71: 259 - 266.
- Ali S., Rasool M., Chaoudhry H., Pushparaj P.N., Jha P., Hafiz A., Mahfooz M., Sami G.A., Kamal M.A., Bashir S., Ali A., and Jamal M.S. 2016. *Molecular Mechanisms and Mode of Tamoxifen Resistance in Breast Cancer*. Bioinformation, 12: 135-139.
- Amin S. and Indra 2013. *Docking Amprenavir Dan Senyawa Turunannya Sebagai Anti-HIV (Human Immunodeficiency Virus)*. Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada, 9: 67 - 74.
- Apriali K.D., Triana E., Farhani M.I., Khoirunnisa A. and Nur'aini Y.A. 2022. *Studi Penambatan Molekul dan Prediksi ADMET Senyawa Metabolit Sekunder Tanaman Kelor [Moringa oleifera L.] Sebagai Inhibitor BACE1 Pada Penyakit Alzheimer*. FITOFARMAKA: Jurnal Ilmiah Farmasi, 12: 58 - 67.
- Astuty P. and Komari N. 2022. *Kajian Molecular Docking Senyawa Karwinaphthol B Dari Tanaman Bawang Dayak [Eleutherine palmifolia (L.) Merr] sebagai Inhibitor Enzim Glukokinase*. Jurnal Natural Scientiae, 2: 1 - 9.
- Chang M. 2012. *Tamoxifen Resistance in Breast Cancer*. Biomolecules & Therapeutics (Seoul), 20: 256-267.
- Dela Cruz J.M.D., Dones S.A.A., Villanueva R.C., Labrador A.M. and Santiago-bautista M.R. 2022. *Molecular Docking and in silico Pharmacological Screening of Oleosin from Cocos Nucifera Complexed with Tamoxifen in Developing Potential Breast Chemotherapeutic Leads*. Asian Pac J Cancer Prev, 23: 2421-2430.
- Dermawan D., Sumirtanuridin R., and Dewantisari D. 2019. *Molecular Dynamics Simulation Estrogen Receptor Alpha against Andrographolide as Anti Breast Cancer*. Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology, 6: 65-76.
- Dwitiyanti, Rachmania R.A., Efendi K., Atmojo T.T. and Yeni 2018. *Potensi Biji Buah Nangka [Artocarpus heterophyllus L.] Dalam Menghambat Reseptor Alfa-Glukosidase pada Tikus Diabetes Mellitus Gestasional yang Terinduksi Stretozotosin secara In Vivo Dan In Silico*. Prosiding Kolokium Doktor Dan Seminar Hasil Penelitian Hibah, 1: 118-130.
- Faridah F., Mumpuni E., and Yunanto Y.I. 2019. *In-silico Analysis of Chemical Compounds in Green Tea Working on Activators PPAR- γ as Antiobesity*. Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia, 17: 251-254.
- Han Y., Zhang J., Hu C.Q., Zhang X., Ma B., and Zhang P. 2019. *In silico ADME and Toxicity Prediction of Ceftazidime and Its Impurities*. Front Pharmacol, 10, 434.
- Korb O., Stüttzle T., and Exner T.E. 2007. *An Ant Colony Optimization Approach to Flexible Protein-Ligand Docking*. Swarm Intelligence, 1: 115-134.

- Krihariyani D., Haryant E., Sasongkowati R., and Woelansari E.D. 2019. *Studi Insilico Aktivitas Antioksidan dan ADMET Brazilein Kayu Secang [Caesalpinia sappan L.] terhadap Escherichia coli Extended Spectrum Beta-Lactamase (ESBL) (Kandidat Suplemen Penguat Sistem Imun)*. Prosiding Seminar Nasional Kesehatan Poltekkes Kemenkes Surabaya, 1: 251-257.
- Krihariyani D., Haryanto E., and Sasongkowati R. 2021. *In Silico Analysis of Antiviral Activity and Pharmacokinetic Prediction of Brazilein Sappan Wood [Caesalpinia sappan L.] Against SARS-CoV-2 Spike Glycoproteins*. Indonesian Journal of Medical Laboratory Science and Technology, 3: 26-37.
- Krihariyani D., Sasongkowati R., and Haryanto E. 2020. *Studi In Silico Sifat Farmakokinetik, Toksisitas, dan Aktivitas Imunomodulator Brazilein Kayu Secang Terhadap Enzim 3-Chymotrypsin-Like Cysteine Protease Coronavirus*. Journal of Indonesian Medical Laboratory and Science, 1: 76-85.
- Maftucha N., Manalu R., Amelia R., Cordia P., and Bupu R. 2022. *Potensi Senyawa Turunan Xanton dari Kulit Buah Manggis [Garcinia mangostana L.] Sebagai Inhibitor Protein Mycobacterium tuberculosis: Studi In Silico*. Pharmaceutical Journal of Indonesia, 7: 123-128.
- Manalu R.T. 2021. *Molecular Docking Senyawa Aktif Buah dan Daun Jambu Biji [Psidium guajava L.] Terhadap Main Protease Pada SARS-CoV-2*. Forte Journal, 1: 9-16.
- National Center for Biotechnology Information. 2023. PubChem Compound Summary for CID 2733526, Tamoxifen. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Tamoxifen> (Diakses 19 Mei 2023).
- Nursanti O. 2019. *Validasi Penambatan Molekul Untuk Mendapatkan Ligan Aktif Pada Reseptor Cyclooxygenase 2*. Prosiding Seminar Informasi Kesehatan Nasional, 1: 411-430.
- Nursanti O., Aziz A., and Hadisoebroto G. 2022. *Docking Dan Uji Toksisitas Secara Insilico Untuk Mendapatkan Kandidat Obat Analgesik*. INPHARNMED Journal: Indonesian Pharmacy and Natural Medicine Journal, 6: 35-46.
- Pannindriya P., Safithri M., and Tarman K. 2021. *Analisis In Silico Senyawa Aktif Spirulina platensis sebagai Inhibitor Tirosinase*. Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia, 24: 70-77.
- Pawlik A., Słomińska-Wojewódzka M., and Herman-Antosiewicz A. 2016. *Sensitization of Estrogen Receptor-Positive Breast Cancer Cell Lines to 4-Hydroxytamoxifen by Isothiocyanates Present in Cruciferous Plants*. European Journal of Nutrition, 55: 1165-1180.
- Pinzi L., and Rastelli G. 2019. *Molecular Docking: Shifting Paradigms in Drug Discovery*. International Journal of Molecular Sciences, 20: 4331.
- Pires D.E., Blundell T.L., and Ascher D.B. 2015. *pkCSM: Predicting Small-Molecule Pharmacokinetic and Toxicity Properties Using Graph-Based Signatures*. Journal of Medicinal Chemistry, 58: 4066-72.
- Pratama A.A., Rifai Y., and Marzuki A. 2017. *Docking Molekuler Senyawa 5,5'-Dibromometilsesamin*. Majalah Farmasi Dan Farmakologi, 21: 67-69.
- Shah V., Bhaliya J., and Patel G.M. 2022. *In Silico Docking and ADME Study of Deketene Curcumin Derivatives (DKC) as an Aromatase Inhibitor or Antagonist to the Estrogen-Alpha Positive Receptor (Era(+))*. Potent Application of Breast Cancer. Struct Chem, 33: 571-600.
- Sihite E.D.O., Nurchayati S., and Hasneli Y. 2019. *Gambaran Tingkat Pengetahuan Tentang Kanker Payudara dan Perilaku Periksa Payudara Sendiri (SADARI)*. Jurnal Ners Indonesia, 10: 8-20.
- Syahputra G., Ambarsari L., and Sumaryada T. 2014. *Simulasi Docking Kurkumin Enol, Bisdemetoksikurkumin dan Analognya Sebagai Inhibitor Enzim 12-Lipoksigenase*. Jurnal Biofisika, 10: 55-67.



ORIGINALITY REPORT

23%

SIMILARITY INDEX

23%

INTERNET SOURCES

4%

PUBLICATIONS

2%

STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	repository.uhamka.ac.id Internet Source	3%
2	etheses.uin-malang.ac.id Internet Source	3%
3	ejournal.unsrat.ac.id Internet Source	2%
4	repository.unfari.ac.id Internet Source	2%
5	semnas.poltekkesdepkes-sby.ac.id Internet Source	1%
6	journal.universitaspahlawan.ac.id Internet Source	1%
7	journal.ipb.ac.id Internet Source	1%
8	patents.justia.com Internet Source	1%
9	ppjp.ulm.ac.id Internet Source	1%

10	download.garuda.kemdikbud.go.id Internet Source	1 %
11	eprints.umm.ac.id Internet Source	1 %
12	www.researchgate.net Internet Source	<1 %
13	jifi.farmasi.univpancasila.ac.id Internet Source	<1 %
14	journal.unpak.ac.id Internet Source	<1 %
15	jurnal.kimia.fmipa.unmul.ac.id Internet Source	<1 %
16	ojs.uajy.ac.id Internet Source	<1 %
17	Cindy Heben Cindy Heben, Rani Lisa Indra Rani Lisa Indra, Susi Erianti Susi Erianti. "Gambaran penerapan Discharge planning pada pasien post mastektomi untuk mencegah terjadinya limfedema", Jurnal Keperawatan Hang Tuah (Hang Tuah Nursing Journal), 2021 Publication	<1 %
18	www.coursehero.com Internet Source	<1 %
19	www.cermati.com	

<1 %

20

www.freepatentsonline.com

Internet Source

<1 %

21

digilib.unila.ac.id

Internet Source

<1 %

22

id.scribd.com

Internet Source

<1 %

23

ojs.udb.ac.id

Internet Source

<1 %

24

riset.unisma.ac.id

Internet Source

<1 %

25

journal.uad.ac.id

Internet Source

<1 %

26

123dok.com

Internet Source

<1 %

27

digilib.unimed.ac.id

Internet Source

<1 %

28

dspace.unitru.edu.pe

Internet Source

<1 %

29

e-jurnal.stikes-isfi.ac.id

Internet Source

<1 %

30

ejournal.poltektegal.ac.id

Internet Source

<1 %

31	ejournal.radenintan.ac.id Internet Source	<1 %
32	jurnal.aiptlmi-iasmlt.id Internet Source	<1 %
33	ojs.unud.ac.id Internet Source	<1 %
34	repository.usu.ac.id Internet Source	<1 %
35	text-id.123dok.com Internet Source	<1 %
36	vdocuments.site Internet Source	<1 %
37	Andi Hakim, Widyanti Widyanti, Untung Alfianto. "HUBUNGAN ANTARA OBESITAS DENGAN RESEPTOR HORMONAL (Reseptor Estrogen dan Progesteron) DAN EKSPRESI HER-2/NEU PADA PASIEN KANKER PAYUDARA DI RS X SURAKARTA", Biomedika, 2018 Publication	<1 %
38	journal.ummat.ac.id Internet Source	<1 %

FINAL GRADE

/0

GENERAL COMMENTS

Instructor

PAGE 1

PAGE 2

PAGE 3

PAGE 4

PAGE 5

PAGE 6

PAGE 7

PAGE 8

PAGE 9

PAGE 10

PAGE 11

PAGE 12