

Studi in silico tentang naringin sebagai reseptor anti-HER-2 dalam pengobatan kanker payudara

Abdurrahman ^{a, 1}, Muh. Agus Syamsur Rijal ^{b, 2*}, Helmy Yusuf ^{b, 3}, Norhayati ^{c, 4}, Gusti Rizaldi ^{c, 5}

^a Program Studi Magister Ilmu Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia

^b Departemen Ilmu Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia

^c Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Borneo Lestari, Banjarbaru, Indonesia

¹ abdurrahman@unbl.ac.id; ² muh-a-s-r@ff.unair.ac.id; ³ helmy-yusuf@ff.unair.ac.id; ⁴ norhayati@unbl.ac.id;

⁵ rizaldigusti@unbl.ac.id

*muh-a-s-r@ff.unair.ac.id

Kata kunci:

Naringin;
Kanker payudara;
HER-2;
Molecular docking;
In silico

ABSTRAK

Ekspresi berlebih oleh *Human Epidermal Receptor-2* (HER-2) menjadi penyebab pada perkembangan kanker payudara, sehingga HER-2 dapat menjadi target terapi antikanker. Trastuzumab merupakan obat pilihan dalam menghambat reseptor HER-2 dan tirosin kinase, namun kelemahan obat tersebut karena dapat terjadi resistensi obat. Naringin memiliki potensi sebagai terapi kanker payudara. Penelitian bertujuan untuk mengetahui penghambatan ekspresi berlebih pada reseptor HER-2 oleh naringin secara in silico. *Docking* molekul telah dilakukan dengan mengoptimalkan naringin dan trastuzumab, menyiapkan target protein HER-2 (PDB ID 3PP0), memvalidasi penambatan molekuler protokol, dan *docking* naringin dan trastuzumab pada HER-2. Penelitian menghasilkan *binding energy* sebesar -8.66 kcal/mol, sedangkan *binding energy* ligan asli (03Q) dan trastuzumab ke HER-2 masing-masing sebesar -9,94 kcal/mol dan -5,87 kcal/mol. Pengikatan energi menunjukkan bahwa naringin berpotensi sebagai antikanker payudara yang ditunjukkan dari afinitasnya yang lebih kuat terhadap HER2.

Key word:

Naringin;
Breast cancer;
HER-2;
Molecular docking;
In silico

ABSTRACT

Overexpression of Human Epidermal Receptor-2 (HER-2) is the cause of the development of breast cancer, so HER-2 can be a target for anticancer therapy. Trastuzumab is the drug of choice in inhibiting the HER-2 receptor and tyrosine kinase, but the weakness of this drug is that drug resistance can occur. Naringin has potential as a breast cancer therapy. The research aims to determine the inhibiting overexpression of the HER-2 receptor by naringin using in silico method. Molecular docking has been carried out by optimizing naringin and trastuzumab, preparing the HER-2 protein target (PDB ID 3PP0), validating the molecular docking protocol, and docking naringin and trastuzumab on HER-2. The research produced a *binding energy* of -8,66 kcal/mol, while the binding energies of the original ligand and trastuzumab to HER-2 were -9,94 kcal/mol and -5,87 kcal/mol, respectively. The *binding energy* shows that naringin has potential as an anti-breast cancer agent as indicated by its stronger affinity for HER2.

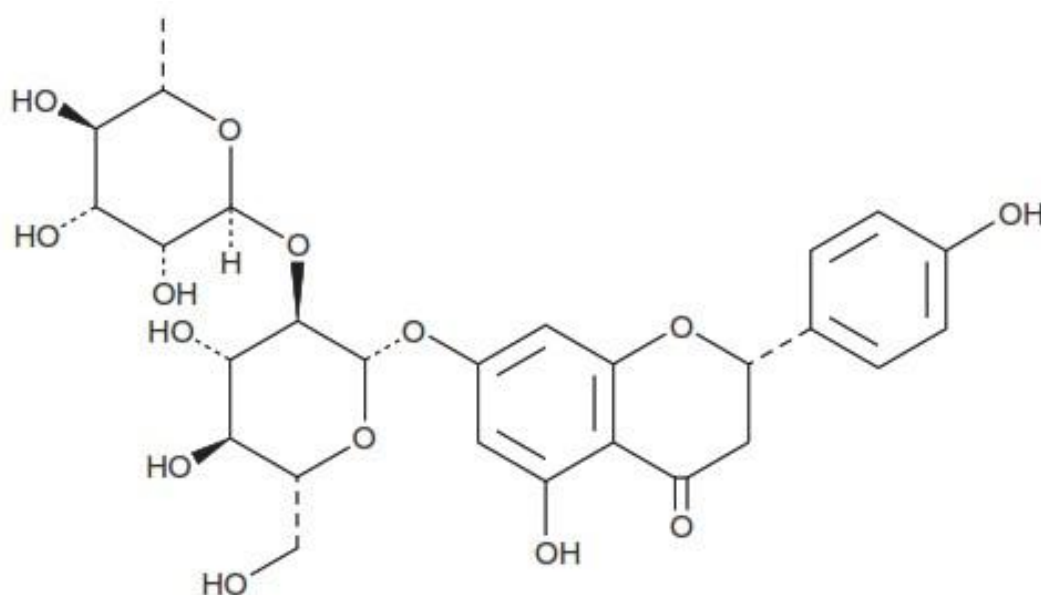
Pendahuluan

Pertumbuhan sel secara abnormal yang dapat menyerang bagian tubuh atau organ lain disebut sebagai kanker (Halimatushadyah et al., 2018; WHO, 2022). Kanker payudara merupakan penyebab kematian akibat kanker kelima di seluruh dunia, dengan 685.000 kematian (Sung et al., 2021). Penyebab 50% kasus kanker payudara adalah overekspresi reseptor estrogen dan 30% disebabkan oleh overekspresi Human Epidermal Receptor-2 (HER-2). Overekspresi HER-2 dapat menyebabkan peningkatan terjadinya proliferasi, metastasis, dan menginduksi angiogenesis serta anti-apoptosis (Dai et al., 2016). Overekspresi HER-2 dapat menginduksi terjadinya dimerisasi dan autofosforilasi, yang dapat memicu aktivasi fokal adhesi kinase (FAK) yang terlibat dalam migrasi serta metastasis sel kanker (Gevorgyan et al., 2016).

Kanker payudara selama ini diobati menggunakan kemoterapi, pembedahan, atau kombinasi keduanya. Penggunaan obat kimia dalam kemoterapi dapat menghancurkan jaringan sel kanker, namun memiliki efek buruk karena tidak dapat membedakan sel normal dan sel kanker sehingga terjadi efek samping seperti muntah, diare, dan alopecia (S. Li et al., 2020). Metode terapi kanker payudara perlu ditingkatkan agar memiliki penghantaran target yang spesifik dan selektivitas yang tinggi terhadap kanker payudara. Agen kemoterapi dalam pengobatan kanker payudara positif HER-2 adalah trastuzumab.

Solusi lain yang dapat diberikan untuk mengatasi permasalahan tersebut adalah memanfaatkan potensi tanaman obat. Tanaman memproduksi metabolit sekunder yang berfungsi sebagai pertahanan tubuh (Rizaldi et al., 2024). Selain itu, senyawa tersebut memiliki sifat terapeutik dan berpotensi dalam menghambat pembentukan kanker (Artun et al., 2016). Senyawa aktif utama yang terdapat pada buah-buahan adalah senyawa polifenol flavonoid. Flavonoid mampu menunjukkan efek antikanker yang kuat sebagai antioksidan, memodulasi aktivitas enzim *reactive oxygen species* (ROS), meningkatkan regulasi apoptosis, *autophagy* dan penghentian siklus sel, dan menurunkan regulasi peradangan, proliferasi proses dan pembentukan metastasis (Stabrauskiene et al., 2022).

Salah satu metabolit sekunder Naringin termasuk dalam subkelas flavonoid yang dikenal sebagai flavanon, naringin adalah flavonoid utama yang diekstrak dari jeruk bali dan buah jeruk lainnya. Flavonoid dicirikan oleh adanya inti flavan dan dikenal sebagai fenolik C6–C3–C6 (Rizaldi et al., 2023). Naringin memiliki nama kimia (4',5,7-trihidroksi flavanon 7- rhamnoglucoside) (H. Li et al., 2013). Berat molekul naringin adalah 580,55 dengan kelarutan naringin sebesar 1,1 g/L dan titik leleh 245,8°C (Lauro et al., 2007). Naringin diketahui memiliki efek farmakologi antara lain antioksidan, antiulcer, antialergi, dan antikanker. Naringin memiliki kelemahan yaitu kelarutan yang rendah dalam air, permeabilitas terbatas, dan ketersediaan hayati yang kurang optimal (Mohamed et al., 2018). Bioavailabilitas dari naringin diketahui rendah sekitar 8% (Rechner et al., 2004). Struktur naringin dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Struktur naringin

Naringin dapat menginduksi sitotoksitas melalui apoptosis pada sel leukemia tikus P388 (Kanno et al., 2006). Naringin berpotensi dalam menghambat pertumbuhan sel kanker payudara melalui modulasi jalur β catenin (H. Li et al., 2013). Naringin adalah glikosida flavanon alami yang terbentuk dari naringenin dan neohesperidose, naringin mengalami metabolisme ekstensif di hati sehingga menimbulkan naringenin dan metabolit bioaktif lainnya dengan efek antioksidan, anti inflamasi, dan anti apoptosis (Bharti et al., 2014). Naringin memiliki aktivitas menghambat CYP3A4 yang memberikan penghambatan 14% pada 200 μ M (Ho et al., 2001). Hal tersebut berperan sebagai apoptosis pada neuron dan meningkatkan ekspresi faktor neurotropik pada neuron dopaminergik, sehingga memberikan perlindungan saraf (Jung et al., 2014).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui mekanisme naringin dalam menghambat reseptor HER-2, suatu protein yang berperan dalam proses pertumbuhan dan diferensiasi sel epitel normal, Oleh karena itu, *molecular docking* digunakan untuk memprediksi penghambatan HER-2 oleh naringin.

Metode

Alat dan bahan

Penelitian ini menggunakan hardware dan software komputer. Komputer yang digunakan adalah milik pribadi dengan spesifikasi hardware Intel® Core™ i3 CPU M380 @ 2.53GHz, 8 gigabyte RAM, Satellite L635, Microsoft Windows® 7 Ultimate, dan software yang digunakan meliputi BIOVIA Discovery Studio 2017 R2 Client, Protein Data Bank, PubChem, ChemDraw, Chem3D dan AutoDock Tools.

Preparasi reseptor

Reseptor yang digunakan sebagai makromolekul diperoleh dari <http://www.rcsb.org/pdb/> dengan kode PDB: 3PP0 dengan native ligand (03Q) pada rantai A.

Preparasi ligand

Preparasi struktur dari senyawa uji Naringin diperoleh menggunakan kode SMILES yang didapatkan pada PubChem kemudian digambar pada ChemDraw. Selain itu digunakan pembanding yaitu Trastuzumab (kontrol positif) yang dipreparasi dengan cara yang sama.

Minimasi energi

Minimasi energi dilakukan pada ligand uji menggunakan Chem3D untuk menggunakan parameter MM2 untuk memperoleh konformasi atau bentuk molekul yang paling stabil serta interaksi ligand dan reseptor yang lebih fleksibel.

Validasi reseptor

Validasi dilakukan dengan cara melakukan penambatan ulang ligand alami dengan reseptor dari 3PP0 menggunakan software Autodock Tools. Parameter yang digunakan yaitu mengamati nilai Root Mean Standard Deviation (RMSD). Validasi berhasil jika nilai RMSD yang dihasilkan <2.0 Å.

Molecular Docking

Molecular docking dilakukan menggunakan AutoDock Tools-1.5.7 untuk mengamati interaksi antara Reseptor Human Epidermal Growth (Her)-2 (3PP0) dengan Naringin dan senyawa pembanding Trastuzumab.

Analisis Data

Setelah didapatkan hasil *binding energy* dan konstanta inhibisi pada senyawa uji dan pembanding dilakukan analisis data. Senyawa yang memiliki skor *binding energy* yang tinggi menunjukkan afinitas yang stabil.

Hasil dan Pembahasan

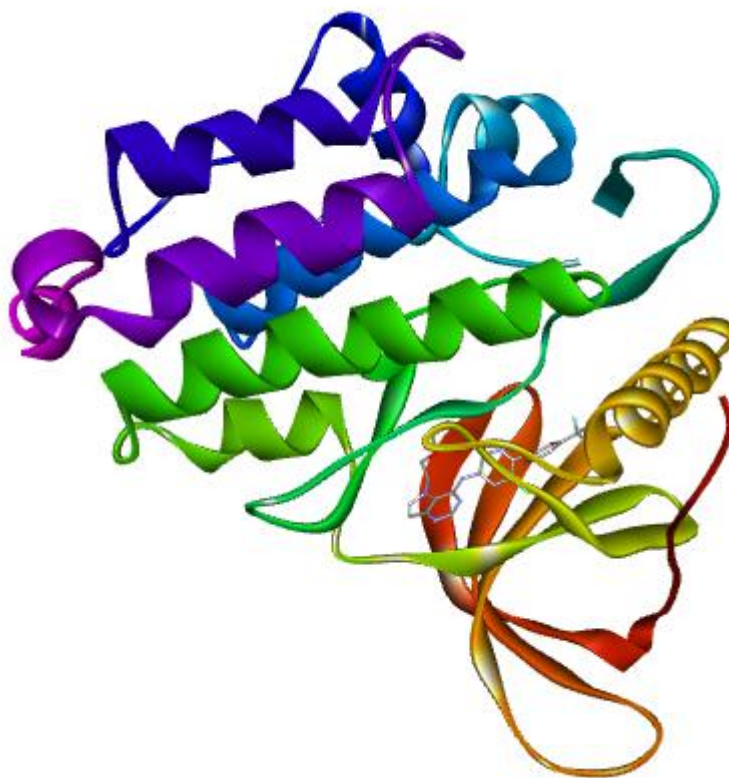
Penelitian ini melakukan uji in silico dengan menggunakan metode molecular docking. Metode ini dilakukan terhadap senyawa Naringin dan senyawa pembanding Trastuzumab terhadap Reseptor Human Epidermal Growth (Her)-2 (3PP0), struktur 3PP0 dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Molecular Docking Senyawa Uji Terhadap (Her)-2 (3PP0)

No	Ligand	<i>Binding energy</i> (kcal/mol)	Inhibition Constant (nM)	Torsional Energy (kcal/mol)	Free Final Intermolecular Energy (kcal/mol)
1	03Q (ligand alami)	-9.94	52.10	+2.98	-12.92
2	Trastuzumab (kontrol positif)	-5.87	49.91	+2.09	-7.96
3	Naringin	-8.66	449.32	+4.18	-12.84

Program yang digunakan dalam penelitian ini adalah Autodock dengan MGL Tools 1.5.7 dari AutoDock Tools. Protein (PDB ID: 3PP0) berisi reseptor (Her)-2 yang membentuk kompleks dengan ligand alami 03Q. Pemilihan reseptor (Her)-2 karena merupakan salah satu reseptor utama yang berperan dalam proses terjadinya sel kanker (Iqbal & Iqbal, 2014). Trastuzumab digunakan sebagai senyawa pembanding karena merupakan obat generasi pertama dari antibodi monoklonal yang bekerja sebagai anti-(Her)-2 (Mutiah et al., 2021).

Validasi merupakan merupakan proses dasar dari simulasi docking yang dilakukan pada protein 3PP0 yang diunduh dari <http://www.rcsb.org/>. Kemudian molekul air dihilangkan sehingga hanya ligand alami dan protein yang berinteraksi (Kitchen et al., 2004). Proses validasi dilakukan untuk mengetahui kesesuaian metode yang dikerjakan dan nilai RMSD menggambarkan kestabilan jarak atau kedekatan konformasi diantara hasil docking dengan ligand target (Norhayati, Andika, et al., 2023). RMSD pada proses validasi harus $<2 \text{ \AA}$ agar dapat diartikan bahwa metode yang kita gunakan sudah sesuai dan benar (Norhayati, Ekowati, et al., 2023). Pada validasi docking 3PP0



diperoleh nilai RMSD $0.65 \text{ \AA}$ dengan menyesuaikan grid box dengan dimensi $x = 42$, $y = 42$, $z = 42$ dengan koordinat grid box $x = 16.622$, $y = 17.394$, $z = 26.218$ yang bertujuan untuk menentukan tempat pengikatan interaksi antara ligand dengan protein (Rachmania et al., 2016). Karena nilai RMSD yang $<2 \text{ \AA}$ sehingga metode dan koordinat grid box dapat dilanjutkan menggunakan pada senyawa uji.

Gambar 1. Crystal Structure of the Kinase domain of Human HER2 (erbB2) Chain A

Senyawa uji naringin dan trastuzumab diperoleh dari situs <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> sebagai pengganti ligand alami pada proses docking. Selanjutnya proses docking dilakukan dengan makromolekul 3PP0 yang telah dipisahkan ligand alaminya dan diatur grid box sesuai dengan yang diperoleh pada hasil validasi. Output yang dihasilkan berupa .dlg yang berisi data hasil molecular docking yaitu *binding energy*, *inhibition constant*, *torsional free energy*, *final intermolecular energy*, *internal total energy*, dan *unbound energy*.

Hasil *binding energy* dari naringin dan trastuzumab dapat dilihat pada Tabel 1, -5.87 kcal/mol pada trasztuzumab dan -8.66 kcal/mol pada naringin. Hasil *binding energy* dari ligand disusun berdasarkan ranking berdasarkan nilai *binding energy* tertinggi. Semakin tinggi nilai minus *binding energy*, maka konformasi antara ligand dan protein semakin stabil (Idrees & Ashfaq, 2014).

Naringin termasuk dalam kelas flavonoid sebagai flavanon yang banyak ditemukan pada buah jeruk, lemon, mandarin, dan anggur. Flavanon memiliki aktivitas antioksidan kuat karena terdapat jumlah dan konfigurasi gugus hidroksil fungsional yang bertanggung jawab untuk menangkap radikal bebas dan ion logam aktivitas khelat. Pada kasus kanker sebesar 20% terkait dengan peradangan jangka panjang. Dimana peradangan kronis yang tidak terkontrol dapat menghasilkan produksi ROS berlebih secara terus-menerus yang dapat menyebabkan kerusakan DNA dan perubahan genom, sehingga terjadi pertumbuhan tumor. Selain itu mediator inflamasi seperti IFN- γ , TNF, IL-1 α /b dan IL-6, atau faktor pertumbuhan transformasi termasuk sitokin dan faktor pertumbuhan endotel vaskular dapat menstimulasi proses yang meningkatkan suplai darah pertumbuhan tumor. Pada jalur inflamasi primer seperti NF- κ B berperan dalam siklus hidup sel kanker untuk menghindari apoptosis. Beberapa penelitian menunjukkan naringin memiliki mekanisme untuk mengganggu perkembangan kanker (Stabrauskiene et al., 2022).

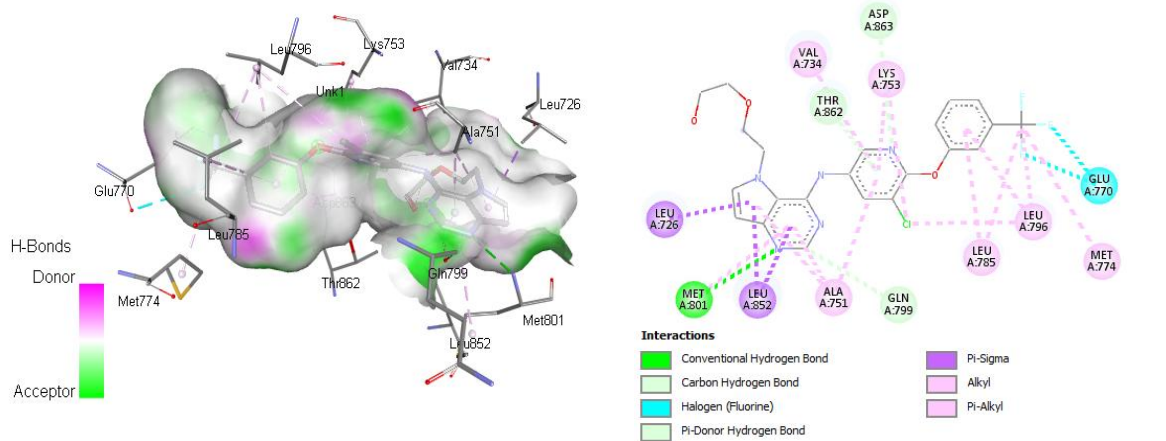
Obat kemoterapi memiliki aktivitas sebagai anti kanker karena membantu terjadinya apoptosis sel. Penggunaan kemoterapi memiliki dampak buruk karena dapat mempengaruhi sel-sel sehat yaitu mukosa lambung, folikel rambut, dan sel sumsum tulang yang mengganggu fungsi normalnya (Todoric et al., 2016). Potensi antikanker dari flavanon yang terdapat pada naringin menjadi pusat perhatian karena beberapa jalur sinyal seluler memediasi aktivitas anti karsinogenik flavanon. Penghambatan jalur transduksi sinyal seperti faktor pertumbuhan endotel vaskular (yang mampu menurunkan suplai darah sel kanker). Oleh karena itu, flavanon ini mungkin mempunyai potensi sebagai senyawa bioaktif untuk digunakan dalam terapi alternatif untuk mengobati dan mencegah berbagai jenis kanker (Stabrauskiene et al., 2022).

Inhibition constant didefinisikan sebagai kemampuan ligan dalam menghambat aktivitas reseptor. Semakin rendah nilai *inhibition constant* (K_i) maka konsentrasi ligan yang diperlukan dalam menghambat aktivitas reseptor akan semakin kecil (Puspita et al., 2022). *Inhibition constant* naringin didapatkan 449.32 (nM) dan trastuzumab 49.91 (nM).

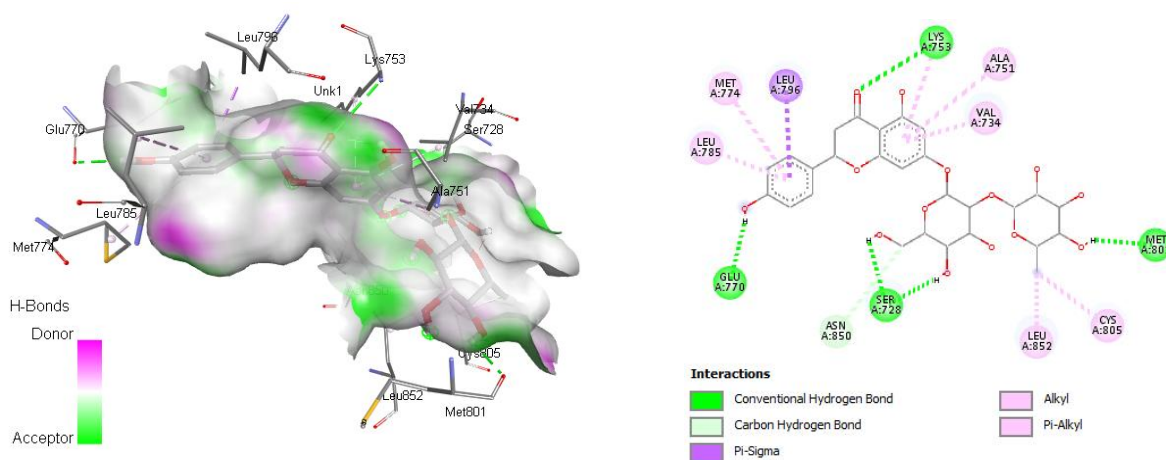
Torsional free energy, juga dikenal sebagai entropi, adalah ukuran energi panas rata-rata yang didistribusikan ke seluruh benda sistem termodinamika. Hukum kedua termodinamika menyatakan bahwa panas selalu mengalir secara spontan dari daerah yang bersuhu lebih tinggi ke daerah yang bersuhu lebih rendah. Hal ini mengurangi derajat keteraturan sistem awal, dan oleh karena itu, entropi juga dapat dipandang sebagai ukuran ketidakteraturan dalam molekul suatu sistem. Nilai positif menunjukkan peningkatan derajat kebebasan sistem, sedangkan nilai negatif menunjukkan penurunan (Bronowska, 2011; MacRaild et al., 2007). Dalam interaksi ligan dan reseptor, nilai negatif atau positif bisa menunjukkan nilai yang baik dan terjadinya suatu ikatan (Liu et al., 2012). Didapatkan nilai *torsional free energy* pada naringin yaitu +4.18 kcal/mol dan trastuzumab +2.09 kcal/mol.

Final intermolecular energy atau entalpi adalah energi total sistem termodinamika, yaitu jumlah energi internal zat terlarut dan pelarut serta jumlah energi yang diperlukan untuk memberi ruang bagi sistem tersebut (H. M. Li et al., 2014). Pada proses pengikatan, ΔH atau entalpi mencerminkan perubahan energi ketika ligan berikatan dengan reseptor akibat terbentuknya interaksi nonkovalen (van der Waals, ikatan hidrogen, pasangan ion, dll.). Hasil yang diperoleh pada naringin yaitu -12.84 kcal/mol dan trastuzumab -7.96 kcal/mol. Semakin besar nilai minusnya, semakin baik ruang yang terbentuk antara ligan dan reseptor, Naringin memiliki nilai entalpi lebih baik dibandingkan trastuzumab.

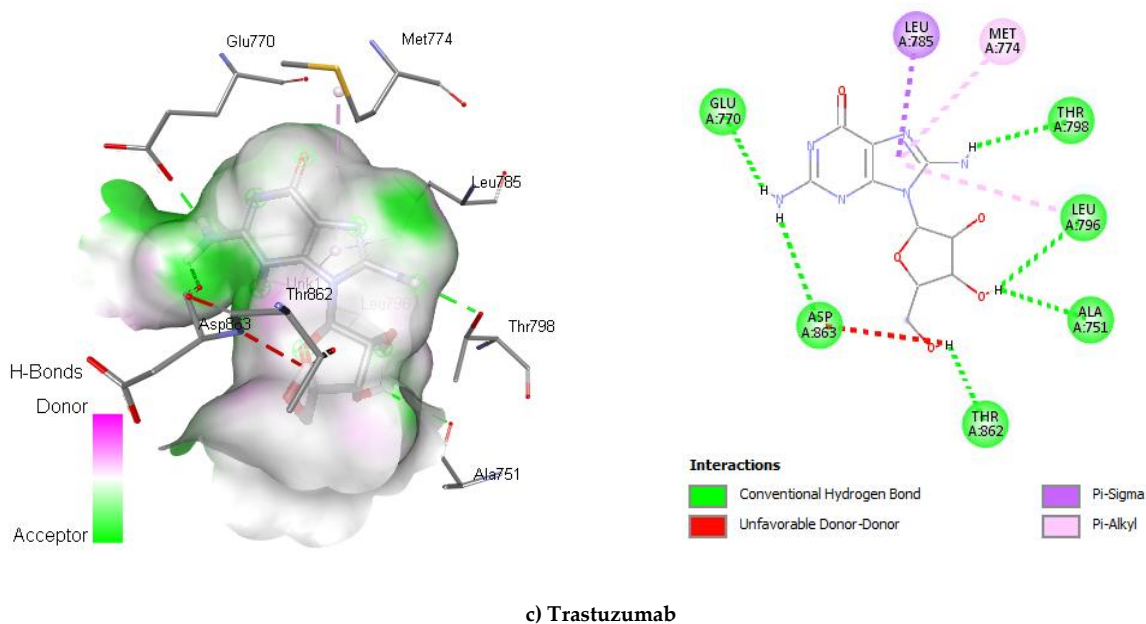
Dalam studi molekuler docking, proses visualisasi berperan penting dalam menentukan interaksi asam amino antara ligand dan protein target (reseptor). Visualisasikan intraksi asam amino dari senyawa uji dan pembanding dapat dilihat pada Gambar 2.



a) 03Q (native ligand)



b) Naringin



Gambar 2. Visualisasi 3 dimensi dan 2 dimensi interaksi asam amino menggunakan *Discovery Studio*

Hasil visualisasi interaksi asam amino 3D dan 2D dapat dilihat pada Gambar 2. Pengamatan dilakukan untuk melihat interaksi antara ligan dan reseptor setelah proses molekuler docking menggunakan *Discovery Studio*. Terlihat pada Gambar 2 kolom dimensi hasil docking menunjukkan garis putus-putus yang menunjukkan interaksi antara ligan dan reseptor.

Visualisasi interaksi residu asam amino bertujuan untuk melihat interaksi yaitu berupa interaksi van der Waals, interaksi elektrostatis, ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik (interaksi pi-alkil, alkil-alkil, interaksi pi-sigma pi-pi), dan halogen (Rollando, 2017). Ikatan hidrogen konvensional merupakan ikatan yang berperan penting dalam mengukur kekuatan interaksi ligan dan reseptor. Selain itu, semakin banyak interaksi hidrofobik, semakin hidrofilik senyawa tersebut, sehingga meningkatkan stabilitas interaksi ligan dan reseptor (Pantsar & Poso, 2018).

Pada naringin terdapat empat ikatan hidrogen, satu ikatan karbon-hidrogen, dan tujuh interaksi hidrofobik. Kemudian pada trastuzumab terdapat 6 ikatan hidrogen dan 2 interaksi hidrofobik. Berdasarkan hasil visualisasi, naringin memiliki *binding energy* yang lebih tinggi dibandingkan trastuzumab karena memiliki lebih banyak ikatan dan interaksi dibandingkan trastuzumab.

Naringin memiliki kemiripan interaksi asam amino dengan 30Q (ligand alami) pada MET:801, LEU:785, MET:774, ALA:751, dan VAL:734. Asam amino kunci terdapat pada MET:801 yang merupakan ikatan hidrogen konvensional yang terdapat pada native ligand dan naringin. Selain itu, naringin juga memiliki interaksi pi-alkil dan alkil-alkil yang lebih banyak dibandingkan trastuzumab, sehingga *binding energy* dari naringin lebih baik. Berdasarkan interaksi tersebut menunjukkan bahwa naringin potensial sebagai antikanker payudara dengan menghambat reseptor (Her)-2.

Visualisasi berdasarkan surface area diamati untuk mengetahui kemampuan suatu senyawa untuk masuk kedalam sel atau *binding pocket* pada sisi aktif reseptor. Senyawa naringin memiliki interaksi pada residu MET:801 melalui ikatan karbon-hidrogen yang merupakan jenis ikatan yang paling kuat asam amino kunci seperti pada Gambar 2b. Ikatan hidrogen ini terbentuk pada atom (O) yang terjadi akibat adanya proses transfer donor-akseptor elektron pada sisi aktif protein. Donor dan akseptor ikatan hidrogen menjadi faktor utama dalam permukaan polar.

Kesimpulan dan Saran

Dalam studi molekuler docking, hasil data yang berperan penting dalam menunjukkan kekuatan interaksi antara ligan dan reseptor adalah nilai *binding energy*. *Binding energy* naringin lebih bagus dibandingkan trastuzumab (kontrol) yaitu masing-masing -8.66 kcal/mol dan -5,87 kcal/mol. Dapat disimpulkan bahwa naringin potensial sebagai antikanker payudara dibandingkan trastuzumab (kontrol). Sehingga naringin dapat dikembangkan dan diujikan secara in vitro dan in vivo sebagai antikanker payudara.

Daftar Pustaka

- Artun, F. T., Karagoz, A., Ozcan, G., Melikoglu, G., Anil, S., & Sutlupinar, N. (2016). Anticancer plant extracts on HeLa and Vero cell lines. *J Buon*, 21(3), 720–725. <https://www.jbuon.com/archive/21-3-720.pdf>
- Bharti, S., Rani, N., Krishnamurthy, B., & Arya, D. S. (2014). Preclinical evidence for the pharmacological actions of naringin: a review. *Planta Medica*, 80(6), 437–451. <https://doi.org/10.1055/S-0034-1368351>
- Bronowska, A. K. (2011). Thermodynamics of Ligand-Protein Interactions: Implications for Molecular Design. In *Thermodynamics - Interaction Studies - Solids, Liquids and Gases*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/19447>
- Dai, X., Xiang, L., Li, T., & Bai, Z. (2016). Cancer Hallmarks, Biomarkers and Breast Cancer Molecular Subtypes. *Journal of Cancer*, 7(10), 1281–1294. <https://doi.org/10.7150/JCA.13141>
- Gevorgyan, A., Bregni, G., Galli, G., Zanardi, E., De Braud, F., & Di Cosimo, S. (2016). HER2-Positive Neuroendocrine Breast Cancer: Case Report and Review of Literature. *Breast Care (Basel, Switzerland)*, 11(6), 424–426. <https://doi.org/10.1159/000453572>
- Halimatushadyah, E., Da, M., Muhammad Nursid, dan, Yani Tromol Pos I Surakarta, J. A., Tengah, J., Besar Riset Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan, B., Riset dan Sumber Daya Manusia Kelautan dan Perikanan, B., KSTubun Petamburan Jakarta Pusat, J. V., & Penulis, K. (2018). Sitotoksisitas dan Induksi Apoptosis Ekstrak Etanol Teripang *Holothuria atra* Jaeger, 1833 pada beberapa Sel Kanker. *Jurnal Pascapanen Dan Bioteknologi Kelautan Dan Perikanan*, 13(2), 101–110. <https://doi.org/10.15578/JPBKP.V13I2.536>
- Ho, P. C., Saville, D. J., & Wanwimolruk, S. (2001). Inhibition of human CYP3A4 activity by grapefruit flavonoids, furanocoumarins and related compounds. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4(3), 217–227.

- Idrees, S., & Ashfaq, U. A. (2014). Discovery and design of cyclic peptides as dengue virus inhibitors through structure-based molecular docking. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 7(7), 513–516. [https://doi.org/10.1016/S1995-7645\(14\)60085-7](https://doi.org/10.1016/S1995-7645(14)60085-7)
- Iqbal, N., & Iqbal, N. (2014). Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 (HER2) in Cancers: Overexpression and Therapeutic Implications. *Molecular Biology International*, 2014, 1–9. <https://doi.org/10.1155/2014/852748>
- Jung, U. J., Leem, E., & Kim, S. R. (2014). Naringin: A Protector of the Nigrostriatal Dopaminergic Projection. *Experimental Neurobiology*, 23(2), 124. <https://doi.org/10.5607/EN.2014.23.2.124>
- Kanno, S. I., Shouji, A., Tomizawa, A., Hiura, T., Osanai, Y., Ujibe, M., Obara, Y., Nakahata, N., & Ishikawa, M. (2006). Inhibitory effect of naringin on lipopolysaccharide (LPS)-induced endotoxin shock in mice and nitric oxide production in RAW 264.7 macrophages. *Life Sciences*, 78(7), 673–681. <https://doi.org/10.1016/J.LFS.2005.04.051>
- Kitchen, D. B., Decornez, H., Furr, J. R., & Bajorath, J. (2004). Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications. *Nature Reviews. Drug Discovery*, 3(11), 935–949. <https://doi.org/10.1038/NRD1549>
- Lauro, M. R., De Simone, F., Sansone, F., Iannelli, P., & Aquino, R. P. (2007). Preparations and release characteristics of naringin and naringenin gastro-resistant microparticles by spray-drying. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 17(2), 119–124. [https://doi.org/10.1016/S1773-2247\(07\)50018-3](https://doi.org/10.1016/S1773-2247(07)50018-3)
- Li, H. M., Xie, Y. H., Liu, C. Q., & Liu, S. Q. (2014). Physicochemical bases for protein folding, dynamics, and protein-ligand binding. *Science China. Life Sciences*, 57(3), 287–302. <https://doi.org/10.1007/S11427-014-4617-2>
- Li, H., Yang, B., Huang, J., Xiang, T., Yin, X., Wan, J., Luo, F., Zhang, L., Li, H., & Ren, G. (2013). Naringin inhibits growth potential of human triple-negative breast cancer cells by targeting β -catenin signaling pathway. *Toxicology Letters*, 220(3), 219–228. <https://doi.org/10.1016/J.TOXLET.2013.05.006>
- Li, S., So, T. H., Tang, G., Tan, H. Y., Wang, N., Ng, B. F. L., Chan, C. K. W., Yu, E. C. L., & Feng, Y. (2020). Chinese Herbal Medicine for Reducing Chemotherapy-Associated Side-Effects in Breast Cancer Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Frontiers in Oncology*, 10. <https://doi.org/10.3389/FONC.2020.599073>
- Liu, S.-Q., Ji, X.-L., Tao, Y., Tan, D.-Y., Zhang, K.-Q., & Fu, Y.-X. (2012). Protein Folding, Binding and Energy Landscape: A Synthesis. In *Protein Engineering*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/30440>
- MacRaild, C. A., Daranas, A. H., Bronowska, A., & Homans, S. W. (2007). Global Changes in Local Protein Dynamics Reduce the Entropic Cost of Carbohydrate Binding in the Arabinose-binding Protein. *Journal of Molecular Biology*, 368(3), 822. <https://doi.org/10.1016/J.JMB.2007.02.055>
- Mohamed, E. A., Hashim, I. I. A., Yusif, R. M., Shaaban, A. A. A., El-Sheakh, A. R., Hamed, M. F., & Badria, F. A. E. (2018). Polymeric micelles for potentiated antiulcer and anticancer activities of naringin. *International Journal of Nanomedicine*, 13, 1009. <https://doi.org/10.2147/IJN.S154325>

- Mutiah, R., Jati, T., Dewi, D., Suryadinata, A., & Qonita, K. (2021). Inhibition of Human Epidermal Growth Factor Receptor-2 (HER-2) from Pomelo (*Citrus maxima*) Flavonoid Compounds: an In Silico Approach. *Indonesian Journal of Cancer Chemoprevention*, 12(3), 148–160. <https://doi.org/10.14499/INDONESIANJCANICHEMOPREV12ISS3PP148-160>
- Norhayati, Andika, & Purwanto, A. (2023). In Silico Study of Bajakah Compounds (*Spatholobus suberectus*) to Protease SARS-CoV-2 Inhibitor. *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 5(2), 78–89. <https://doi.org/10.25026/JSK.V5I2.950>
- Norhayati, Ekowati, J., Diyah, N. W., Tejo, B. A., & Ahmed, S. (2023). Chemoinformatics approach to design and develop vanillin analogs as COX-1 inhibitor. *Journal of Public Health in Africa*, 14(Suppl 1). <https://doi.org/10.4081/JPHIA.2023.2517>
- Pantsar, T., & Poso, A. (2018). Binding Affinity via Docking: Fact and Fiction. *Molecules* 2018, Vol. 23, Page 1899, 23(8), 1899. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES23081899>
- Puspita, P. J., Liliyani, N. P. P., & Ambarsari, L. (2022). In Silico Analysis of Active Compounds of Avocado Fruit (*Persea americana* Mill.) as Tyrosinase Enzyme Inhibitors. *Current Biochemistry*, 9(2), 73–87. <https://doi.org/10.29244/CB.9.2.3>
- Rachmania, R. A., Supandi, S., & Cristina, F. A. D. (2016). Analisis Penambatan Molekul Senyawa Flavonoid Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl.) Pada Reseptor α -Glukosidase Sebagai Antidiabetes. *PHARMACY: Jurnal Farmasi Indonesia (Pharmaceutical Journal of Indonesia)*, 13(02), 239–251. <https://jurnalnasional.ump.ac.id/index.php/PHARMACY/article/view/1260/1107>
- Rechner, A. R., Smith, M. A., Kuhnle, G., Gibson, G. R., Debnam, E. S., Srai, S. K. S., Moore, K. P., & Rice-Evans, C. A. (2004). Colonic metabolism of dietary polyphenols: Influence of structure on microbial fermentation products. *Free Radical Biology and Medicine*, 36(2), 212–225. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2003.09.022>
- Rizaldi, G., Hafid, A. F., & Wahyuni, T. S. (2023). Promising alkaloids and flavonoids compounds as anti-hepatitis c virus agents: a review. *Journal of Public Health in Africa*, 14(Suppl 1). <https://doi.org/10.4081/JPHIA.2023.2514>
- Rizaldi, G., Wati, H., Muthia, R., Amadia, S., Hayati, F., & Jumaryatno, P. (2024). Characterization of Ethanolic Extract of Saluang belum (*Luvunga sarmentosa* Kurz) Root. *PHARMACY: Jurnal Farmasi Indonesia (Pharmaceutical Journal of Indonesia)*, 6(1), 21–29.
- Rollando. (2017). *Pengantar Kimia Medisinal*.
- Stabrauskiene, J., Kopustinskiene, D. M., Lazauskas, R., & Bernatoniene, J. (2022). Naringin and Naringenin: Their Mechanisms of Action and the Potential Anticancer Activities. *Biomedicines* 2022, Vol. 10, Page 1686, 10(7), 1686. <https://doi.org/10.3390/BIOMEDICINES10071686>
- Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray, F. (2021). Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 71(3), 209–249. <https://doi.org/10.3322/CAAC.21660>
- Todoric, J., Antonucci, L., & Karin, M. (2016). Targeting Inflammation in Cancer Prevention and Therapy. *Cancer Prevention Research (Philadelphia, Pa.)*, 9(12), 895–905.

<https://doi.org/10.1158/1940-6207.CAPR-16-0209>

WHO. (2022). *Cancer*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer>