

Efek Antikanker Payudara dari Ekstrak Etanol dan Fraksi Etil Asetat Kulit Buah Mangga Arumanis secara *In-Vivo* dan *In-Silico*

Ifmaily Ifmaily^{1*)}, Irwandi Irwandi,² Kamila Zikrina³

^{1,2,3} Faculty of Pharmacy, Perintis Indonesia University, Padang City, 25173, West Sumatera, Indonesia

*) E-mail : ifmaily.72baru@gmail.com

Info Artikel

Sejarah Artikel :

Diterima

16-06-2026

Disetujui

24-07-2026

Dipublikasikan

31-07-2026

Kata Kunci:

Kata kunci :

Antikanker Payudara,
Arumanis, Kulit Buah,
In-Vivo ; *In-Silico*

Keywords:

Breast Anticancer,
Arumanis, Fruit Peel,
In Vivo, *In Silico*

Abstrak

Latar belakang: Kanker payudara, salah satu jenis kanker ganas menyerang wanita di Indonesia bahkan di dunia. Riset terdahulu 2024, ekstrak etanol dan fraksi kulit buah mangga arumanis (*Mangifera indica* L.) memberikan efek sebagai antikanker payudara terhadap sel T47D dengan metode Microtetrazolium (MTT) dengan hasil terbaik pada ekstrak etanol dan fraksi etil asetat, kategori kuat. Kulit buah ini adalah limbah organik yang dapat dijadikan zero waste. **Tujuan** Penelitian bertujuan untuk mengetahui efek antikanker payudara dari ekstrak etanol dan fraksi etil asetat kulit buah mangga arumanis (KBMA) secara *in-vivo* dan *in-silico*. **Hasil:** Uji secara *in-vivo* menggunakan penginduksi 7,12-dimetilbenz(a)antrasena (DMBA) dibagi menjadi 2 kelompok tikus utama yaitu kelompok ekstrak etanol dan fraksi etil asetat, masing-masing 25 ekor. Setiap kelompok dibagi menjadi 5 subkelompok: negatif, positif, dosis 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB, dan 400 mg/kgBB. Tikus Wistar betina diinduksi DMBA dosis 20 mg/kgBB dua kali seminggu selama 5 minggu, kemudian diberi perlakuan hingga minggu ke-11. Parameter yang diamati meliputi besar benjolan, volume kelenjar susu, dan histopatologi. Selain itu dilakukan uji *in silico* menggunakan AutoDock Vina terhadap reseptor RE- α , RE- β , dan HER-2 dengan senyawa mangiferin dan kuersetin berdasarkan literatur, memiliki satu kesamaan ikatan asam amino dengan native ligand yaitu asam amino Arg89 membentuk ikatan hidrogen, dan pada senyawa Mangiferin juga membentuk interaksi hidrofobik pada asam amino Leu79, Ile 119, Leu220. Analisis data menggunakan ANOVA satu arah, uji Duncan, dan Tukey dengan $p < 0,05$. **Simpulan** Ekstrak Etanol dan Fraksi Etil Asetat KBMA dapat mengurangi berat benjolan kelenjar payudara, volume kelenjar payudara, dan apoptosis sel epitel kelenjar payudara tikus betina yang diinduksi DMBA. Ikatan reseptor dengan Mangiferin lebih stabil daripada ligand asli dan Quercetin.

Abstract

Breast cancer is a malignant cancer affecting women in Indonesia and worldwide. Previous research (2024) indicated that the ethanol extract and fractions of Arumanis mango (*Mangifera indica* L.) peel exhibited anti-breast cancer effects against T47D cells using the Microtetrazolium (MTT) assay; the ethanol extract and ethyl acetate fraction yielded the best results, falling into the "strong" activity category. This fruit peel is an organic waste product that can be utilized within a zero-waste framework. This study aimed to determine the anti-breast cancer effects of the ethanol extract and ethyl acetate fraction of Arumanis mango peel (KBMA) through *in vivo* and *in silico* methods. Results: The *in vivo* study utilized 7,12-dimethylbenz(a)anthracene (DMBA) as an inducer and involved two main groups of rats—the ethanol extract group and the ethyl acetate fraction group—with 25 rats in each. Each group was subdivided into five subgroups: negative control, positive control, and treatment doses of 100, 200, and 400 mg/kg body weight (BW). Female Wistar rats were induced with DMBA (20 mg/kg BW) twice weekly for five weeks and subsequently treated until the 11th week. Observed parameters included tumor size, mammary gland volume, and histopathology.

*Additionally, *in silico* testing was conducted using AutoDock Vina to analyze the interaction of mangiferin and quercetin compounds with ER- α , ER- β , and HER-2 receptors based on literature study. It shares a common amino acid interaction with the native ligand, specifically a hydrogen bond formed with Arg89; additionally, the Mangiferin compound forms hydrophobic interactions with amino acids Leu79, Ile119, and Leu220. Data analysis employed one-way ANOVA, Duncan's test, and Tukey's test ($p < 0.05$). Conclusion: The ethanol extract and ethyl acetate fraction of KBMA reduced mammary tumor weight, mammary gland volume, and mammary epithelial cell apoptosis in DMBA-induced female rats. Both the ethanol extract and the ethyl acetate fraction of KBMA yielded excellent results, with the mangiferin compound exhibiting the most stable binding to ER- α , ER- β , and HER-2.*

PENDAHULUAN

Kanker payudara, merupakan urutan kelima kematian akibat kanker, dan penyebab kematian yang paling sering terjadi pada perempuan.[1] Kanker payudara terjadi karena gangguan dalam pertumbuhan sel normal mammae dimana sel abnormal timbul dari sel-sel normal berkembang biak dan menginfiltrasi jaringan limfe dan pembuluh darah.[2]

Kanker payudara menempati urutan pertama dengan prevalensi 40 per 100.000 meningkat dari tahun 2002 dengan angka 26 per 1000. Jenis kanker yang paling banyak ditemukan pada pasien di Indonesia adalah kanker payudara 28,7% kemudian kanker serviks 12,8%.[3]

Penanganan pasien kanker payudara dapat dilakukan dengan operasi, kemoterapi, dan radiasi, namun akibat adanya mekanisme Multidrug resistance (MDR) mengakibatkan berkurangnya kemanjuran obat kemoterapi, terkadang terapi medis ini mengakibatkan mual, muntah, lemas, diare, dan rambut rontok.[1] Adanya efek samping yang banyak tersebut, sangat diperlukan pengujian potensi bahan alam sebagai agen kemopreventif yang berpotensi sebagai agen pendamping kemoterapi, yang dalam hal ini lebih murah harganya, lebih mudah didapat, dan memiliki efek samping yang minimum.[1]

Salah satu tanaman yang bisa digunakan sebagai obat tradisional adalah tanaman mangga arumanis. Hasil dari riset terdahulu bahwa kulit buah mangga arumanis sebagai antikanker payudara pada ekstrak etanol dan fraksi etil asetat secara berurutan memiliki IC₅₀ yaitu 32,21 μ g/ml dan 90,57 μ g/ml kategori kuat, sebagai hasil terbaik, dengan metode MTT pada sel T47D.[4] Di dalam ekstrak etanol kulit buah mangga arumanis banyak mengandung senyawa-senyawa metabolit sekunder golongan xanthon dan flavonoid kuersetin, sebagai dasar uji in-silico.[5]

Uji secara in-vitro dapat didukung dan dilanjutkan dengan uji in-vivo menggunakan penginduksi 7,12-dimetilbenz(a) anthracena (DMBA) sehingga menjadi tikus yang menderita kanker payudara. Proses transformasi sel epitel kelenjar payudara menjadi ganas, dikenal sebagai karsinogenesis. Senyawa karsinogen kimia ini berperan sebagai inisiator dan promotor kanker payudara. Senyawa DMBA dimetabolisme membentuk proximate dan ultimate carcinogen untuk membentuk DNA adduct

melalui aktivasi enzim sitokrom P450, juga dapat menyebabkan stres oksidatif dan membuat lesi pada basa DNA, sehingga terjadinya lesi pada kelenjar payudara.[6]

Hasil induksi DMBA dapat didukung dengan hasil gambaran histopatologi dari apoptosis sel epitel kelenjar mammae melalui proses pewarnaan dengan Hematoksin-eosin.[7]

Pada kanker payudara memiliki reseptor untuk hormon estrogen, progesteron, dan protein HER-2, yang memungkinkan hormon atau protein yang berperan dalam proses terjadinya sel kanker. Analisis Reseptor Estrogen (ER), Reseptor Progesteron (PR) dan Human Estrogen Reseptor-2 (HER-2/neu) telah diterima sebagai prosedur tetap dalam manajemen pasien dengan kanker payudara. Gabungan ekspresi tiga reseptor hormon ini menjadi yang paling informatif dalam klasifikasi molekul tumor payudara dan penilaian klinis untuk pengobatan dan hasil lebih lanjut.[8]

Salah satu reseptor target untuk pengobatan dari kanker payudara adalah reseptor estrogen (RE) alfa, RE beta, progesteron dan HER-2. Telah dikembangkan alternatif pengobatan melalui bahan alam.[9] Penelitian ini juga untuk mengetahui potensi antikanker payudara dari senyawa melalui metode *in silico*. Proses dengan melakukan virtual skrining (AutoDock Vina), pemindaian aturan lima Lipinski serta parameter farmakokinetik dan toksisitas. Hasil virtual skrining senyawa mangiferin dan kuersetin memiliki interaksi stabil dengan masing-masing reseptor di atas.[10]

Penelitian ini didasarkan dari hasil riset Ifmaily di 2023 yang telah dipublikasikan di jurnal nasional, bahwa aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit buah mangga arumanis (KBMA) IC₅₀ adalah 18,29 µg/ml (sangat kuat), dan sifat toksisitasnya LC₅₀ adalah 169,04 µg/ml (toksik), disertai skrining fitokimia positif pada flavonoid, fenol, terpenoid, steroid, saponin dan tanin.[5] Berikut penelitian Ummul Toyibah di 2020 menghasilkan aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol dan infusa KBMA secara berurutan adalah IC₅₀ yaitu 12,46 µg/ml dan 46,92 µg/ml kategori sangat kuat.[11] Berdasarkan hasil riset Kurrota Ayyun di 2023, buah mangga mengandung alkaloid, flavonoid, fenol, terpenoid, steroid, saponin, dan tannin, kemungkinan pada KBMA hampir sama.[12] Sifat antioksidan ekstrak KBMA ini sebagai penangkal radikal bebas yang sangat kuat, penelitian diarahkan ke potensi sitotoksik dari ekstrak KBMA ini sebagai antikanker payudara, karena belum ada yang meneliti. Pada riset ini diambil dari ekstrak etanol dan fraksinasi ekstrak KBMA. Penelitian sebelumnya baru pada buah nanas dan ekstrak etanol biji buah mangga madu, golek, dan arumanis mengamati antikanker payudaranya dengan sel kanker T47D. Untuk penelitian potensi sitotoksik antikanker payudara ekstrak etanol dan fraksinasi ekstrak KBMA ini telah kami lakukan tahun 2024, hasil terbaik pada ekstrak etanol dan fraksi etil asetat dilakukan menggunakan sel kanker T47D dengan metode MTT, memiliki IC₅₀ ; 32,21 dan 90,57 µg/ml, termasuk kategori kuat, sudah dipublikasikan di jurnal nasional terakreditasi.[5] Pada tanaman mangga juga ada senyawa mangiferin yang telah diteliti sebagai antikanker payudara. Mangiferin adalah senyawa xanthon hasil purifikasi dari pelarut polar seperti etanol, bukan pelarut semi polar atau non polar.[4] Berdasarkan penelitian di atas maka kami lanjutkan ke tahap penelitian *in-Vivo*

dengan penginduksi DMBA.[6] dan In-silico dengan menggunakan aplikasi AutoDock Vina dengan komputer untuk melihat ikatan antara senyawa terbanyak pada kulit buah mangga arumanis, yaitu mangiferin dan kuersetin dihubungkan dengan reseptor RE- α , RE- β , dan HER-2 yang terdapat pada penyakit kanker payudara.[10]

Berdasarkan latarbelakang di atas peneliti tertarik untuk melakukan penelitian dengan rumusan masalah sebagai berikut: 1.Apakah ekstrak etanol KBMA mempengaruhi berat benjolan kelenjar payudara, volume kelenjar susu, gambaran histopatologi apoptosis sel epitel kelenjar payudara pada tikus betina kanker payudara? 2.Apakah fraksi etil asetat KBMA mempengaruhi berat benjolan kelenjar payudara, volume kelenjar susu, gambaran histopatologi apoptosis sel epitel kelenjar payudara pada tikus betina kanker payudara? 3.Bagaimanakah analisis docking antara reseptor RE- α , RE- β , dan HER-2 terhadap senyawa mangiferin dan flavonoid kuersetin yang secara literasi dikandung oleh ekstrak etanol KBMA, sebagai antikanker payudara? .Bagaimanakah analisis docking antara reseptor RE- α , RE- β , dan HER-2 terhadap senyawa mangiferin dan flavonoid kuersetin yang secara literasi dikandung oleh fraksi etil asetat KBMA, sebagai antikanker payudara?

Adapun tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol dan fraksi etil asetat KBMA dalam dalam mengurangi berat benjolan kelenjar payudara, volume kelenjar susu, gambaran histopatologi apoptosis sel epitel kelenjar payudara pada tikus betina kanker payudara. Serta menganalisis secara docking kestabilan senyawa mangiferin dan flavonoid kuersetin yang secara literasi dikandung oleh ekstrak etanol dan fraksi etil asetat KBMA, sebagai antikanker payudara terhadap reseptor RE- α , RE- β , dan HER-2.

Penelitian terdahulu baru membahas metode antioksidan, dan aktivitas antioksidannya, belum antikankernya. Novelty penelitian ini dilihat dari aspek farmakologi efek antikankernya, secara patofisiologi, efek terapinya, dan histopatologinya, disertai analisis molekular docking (in-silico) terhadap senyawa terbanyak yang dikandung oleh ekstrak dan fraksi etil asetat KBMA menurut literatur studi, yakni senyawa mangiferin dan kuersetin, terhadap reseptor RE- α , RE- β , dan HER-2 yang ada pada kanker payudara.

METODE PENELITIAN

Alat :

Alat Autodock Vina, spuit 2 cc, masker, handscoon, kandang tikus, cover glass, objek glass, hotplate, microtom, waterbath, PCR.

Bahan :

DMBA, Albumin Meyer, Chloroform, Etanol 96%, Etanol 70%, Etil asetat, Formalin 10%, FeCl₃ 1%, HCl pekat, H₂SO₄ pekat , tikus percobaan, Hematoxyllin eosin, Kulit Buah mangga arumanis, Mg serbuk, n-Hexana, NaCl fisiologi, n-Butanol. Parafin cair,Xylol , makanan dan minuman tikus, kuersetin, mangiferin sebagai standar, protein pdb.

Penelitian ini akan dilakukan dengan cara:

A. Pembuatan Ekstrak Etanol dan Fraksi Etil Asetat

1. Ekstraksi dengan Metode Maserasi

Kulit buah mangga arumanis (KBMA) segar ditimbang 3 kg, dibersihkan, dicuci, ditiriskan, dirajang kecil-kecil, dimaserasi dengan etanol 96 % (1:10), selama 3 x 24 jam. Lakukan maserasi berulang, hingga pelarut berwarna bening, pekatkan dengan rotary evaporator menjadi ekstrak kental etanol KBMA.[13]

2. Fraksinasi

Ekstrak kental etanol ditimbang, dilarutkan dalam 100 ml aquadest di beaker glass, dimasukkan corong pisah 250 ml, tambahkan 100 ml pelarut n-heksan. Setelah itu dikocok, diamkan $\pm$ 15 menit, ambil lapisan n-heksan (bagian atas), dan lapisan air (bagian bawah) dilanjutkan dengan pelarut etil asetat. Lapisan n-heksan dipekatkan dengan rotary evaporator, diperoleh fraksi kental n-heksana KBMA. Lapisan etil asetat diambil, lapisan airnya dilarutkan dengan pelarut n-butanol, masing-masing fraksi dipekatkan dengan rotary evaporator menjadi fraksi kental etil asetat dan n-butanol.[13]

3. Pengujian Parameter Non Spesifik dan Spesifik dari Ekstrak dan Fraksi KBMA

Pada ekstrak dan fraksi KBMA dilakukan pengamatan; organoleptis, persentase rendemen, persentase susut pengeringan, dan penetapan kadar abu total.[13]

4. Skrining Fitokimia Ekstrak dan Fraksi-fraksi Kulit Buah Mangga Arumanis (*Mangifera indica* L)

Uji fitokimia dengan penambahan reagen tertentu untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder dalam ekstrak dan fraksi KBMA; Uji Alkaloid, Uji Flavonoid, Uji Fenol, Uji Saponin, Uji Steroid/terpenoid dan Uji Tanin.[14] Selanjutnya yang diambil untuk uji farmakologi hanya ekstrak etanol dan fraksi etil asetat, karena dari penelitian tahun 2024, kedua sampel ini memberikan hasil yang terbaik sebagai senyawa antikanker payudara dengan kategori kuat, menggunakan sel T47D sebagai sel kanker payudara dengan metode MTT, dan ini sudah kami publikasikan.[5]

B. Uji In-Vivo atau Farmakologi Antikanker Payudara

1. Aklimatisasi hewan coba Tikus Wistar betina

Setelah hewan coba diterima, diaklimatisasi 7 hari dipenangkaran hewan coba. Ada 60 ekor tikus wistar betina, diberi makan dan minum setiap hari hingga mencapai berat 180 gram-200 gram dengan usia 2-3 bulan. Periksa tikus wistar betina itu dengan tanda kehamilan dari hasil aetusnya, jika hamil dikeluarkan. Kemudian dipilih 50 ekor tikus tersebut, sesuai syarat di atas, 10 ekor sebagai cadangan, dibagi 2 kelompok besar, yaitu kelompok ekstrak etanol dan etil asetat. Kelompok ekstrak etanol dan etil asetat masing-masing ada 25 ekor tikus. Selanjutnya setiap kelompok dibagi menjadi 5 sub kelompok terdiri dari kelompok I (negatif), kelompok II (positif), Kelompok III, IV, V, dengan dosis 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB, dan 400 mg/kgBB, dimana setiap sub kelompok ada 5 ekor tikus wistar betina.[6]

2. Lakukan Penginduksi dengan 7,12-Dimetilbenz(a) anthracena (DMBA) dengan dosis 20 mg/kgBB

Proses induksi dengan DMBA dilakukan pada kelompok II, III, IV, dan V, bertujuan untuk menjadikan tikus sehat menjadi sakit kanker payudara. Hitung dosis tersebut dengan benar, dan sesuaikan dengan berat badan tikus tersebut. Proses induksi dilakukan selama 5 minggu, seminggu 2 kali, secara per oral. Cara mendeteksi penginduksi bereaksi terhadap tikus, periksa ada benjolan pada kelenjar mammae tikus, mulai minggu ke-2 sampai ke-5. Pada minggu ke-6, periksa besar benjolan pada kelenjar mammae tikus, menggunakan jangka sorong untuk mengukur diameter benjolan tersebut dan dihitung volumenya. Data didokumentasikan untuk dianalisa. Pada minggu ke-6 juga diukur volume kelenjar susu, data didokumentasikan.[6]

3. Pemberian Ekstrak Etanol pada kelompok besar A dan Fraksi Etil asetat pada kelompok besar B, kecuali kepada sub kelompok I dan II.

Selanjutnya, dilakukan pemberian ekstrak etanol pada kelompok besar A dan fraksi etil asetat pada kelompok B, kecuali sub kelompok I dan II, ini dilakukan selama 6 minggu. Dosis yang diberikan pada sub kelompok III, IV, dan V, dihitung dulu dosisnya, sesuaikan dengan berat badan tikus, diberikan per oral dengan frekuensi 1 kali sehari pada pagi hari.[6]

4. Pengukuran Parameter antikanker payudara pada minggu ke -11

Pada minggu ke-11 diukur volume kelenjar susu, data didokumentasikan. Pada minggu ke-11, periksa besar benjolan pada kelenjar mammae tikus dengan menggunakan jangka sorong untuk mengukur diameter benjolan tersebut dan dihitung volumenya. Data didokumentasikan untuk dianalisis. Setelah didekapitasi, timbang berat benjolan tikus untuk terakhir kalinya. Data didokumentasikan untuk dianalisis.[6]

5. Pemeriksaan Histopatologi dari proses apoptosis sel epitel kelenjar mammae tikus.

Hewan coba didekapitasi, ambil benjolan kelenjar mammae, kemudian ditimbang. Selanjutnya jaringan kelenjar mammae yang mengalami apoptosis disayat. Kemudian dimasukkan ke dalam larutan NaCl fisiologis selama 30 menit. Selanjutnya, pindahkan objek ke dalam formalin 10%, potong objek dengan ketebalan 3-5 mm, masukkan ke dalam embedding cassata. Objek didehidrasi menggunakan alat tissue processor. Buat pengenceran larutan alkohol 70%, 80%, dan 96% dengan mengatur komposisi alkohol 96% dengan aquadest. Lakukan proses dehidrasi dengan larutan alkohol bertingkat. Berikutnya clearing dengan larutan xylol selama 1 jam. Objek dicetak menggunakan paraffin cair pada suhu 64°C. Blok paraffin dikeluarkan dari cetakannya, dipasang pada holder, diiris tipis dengan ketebalan 5 mikrometer menggunakan pisau dari alat cryostat. Tempelkan preparat di atas kaca objek yang sudah diolesi dengan albumin meyer. Tetesi dengan aquadest secukupnya, letakkan sejumlah sayatan di atasnya dengan rentangkan di atas hot plate hingga kering. Selanjutnya preparat dicelupkan ke xylol dan alkohol 96% masing-masing 7 menit, cuci dengan air mengalir 5 menit, masukkan ke pewarna hematoxilin 5

menit, cuci dengan air mengalir 3 menit, keringkan. Selanjutnya masukkan ke dalam eosin 10 menit, cuci dengan air mengalir. Preparat yang telah selesai, diberi label, lakukan pemeriksaan secara mikroskopis, dilihat sel epitel dari kelenjar mammae tersebut, lakukan analisis data.[7]

C. Uji In-Silico Terhadap Reseptor RE- α , RE- β , HER-2 untuk Kandungan Senyawa Mangiferin dan Kuersetin pada Kulit Buah Mangga Arumanis.

Potensi antikanker payudara dari senyawa melalui metode in silico. Dilakukan virtual skrining (AutoDock Vina), pemindaian aturan lima Lipinski dengan parameter afinitas ikatan senyawa dengan reseptor. Hasil virtual skrining dipilih senyawa mangiferin dan kuersetin diharapkan memiliki interaksi stabil dengan masing-masing reseptor yaitu dengan nilai afinitas yang paling rendah dibandingkan dengan senyawa lain. Diharapkan senyawa mangiferin dan kuersetin dapat digunakan sebagai kandidat anti-RE- α , RE- β , dan HER-2 untuk pengobatan kanker payudara yang ada dalam KBMA.[10]

HASIL PENELITIAN

1. Hasil Identifikasi Tanaman

Tumbuhan mangga yang diperoleh, diidentifikasi di Hebarium Jurusan Biologi, Fakultas Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA), Universitas Andalas Padang dengan nomor 177A/K-ID/ANDA/VI/2025, menyatakan bahwa sampel yang digunakan pada penelitian kulit buah mangga arumanis ini merupakan spesies (*Mangifera indica* L) dan family Anacardiaceae.

2. Hasil Pemeriksaan Ekstrak Etanol dan Fraksi Etil Asetat Kulit Buah Mangga Arumanis

Setelah dilakukan penelitian tentang hasil identifikasi ekstrak etanol kulit buah mangga arumanis (*Mangifera indica* L.) maka diperoleh hasil:

1. Pada pemeriksaan organoleptis ekstrak etanol kulit buah mangga arumanis didapatkan hasilnya berbentuk cairan kental, berwarna coklat kehitaman, bau khas mangga dan rasa agak manis.
2. Dari limbah kulit buah mangga arumanis sebanyak 3 kg setelah mengalami proses ekstraksi didapatkan ekstrak sebesar 322,5 gram dengan rendemen 10,75 %
3. Hasil penetapan kadar abu ekstrak etanol kulit buah mangga arumanis adalah 4,54 %
4. Hasil uji susut pengeringan ekstrak etanol kulit buah mangga arumanis adalah 7,01 %
5. Pada pemeriksaan uji fitokimia terhadap ekstrak etanol kulit buah mangga arumanis didapatkan bahwa ekstrak etanol kulit buah mangga arumanis mengandung flavonoid, fenolik, steroid, saponin, alkaloid.

Setelah dilakukan proses fraksinasi, diperoleh fraksi etil asetat kulit buah mangga arumanis (*Mangifera indica* L.) maka diperoleh hasil:

1. Pada pemeriksaan organoleptis fraksi etil asetat kulit buah mangga arumanis didapatkan hasilnya berbentuk cairan kental, berwarna coklat kehitaman, bau khas mangga dan rasa agak manis.

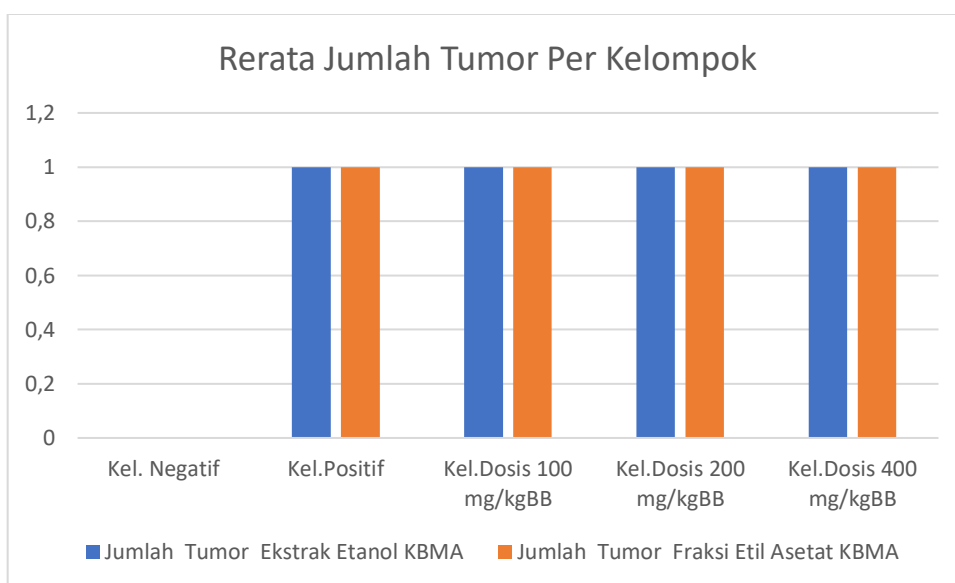
2. Dari ekstrak kental kulit buah mangga arumanis 262,72 gram, setelah mengalami proses fraksinasi didapatkan fraksi etil asetat sebesar 37,45 gram dengan rendemen terhadap ekstrak etanol kental yaitu 14,25 %

3. Hasil penetapan kadar abu fraksi etil asetat kulit buah mangga arumanis adalah 2,54 %

4. Hasil uji susut pengeringan fraksi etil asetat kulit buah mangga arumanis adalah 3,01 %

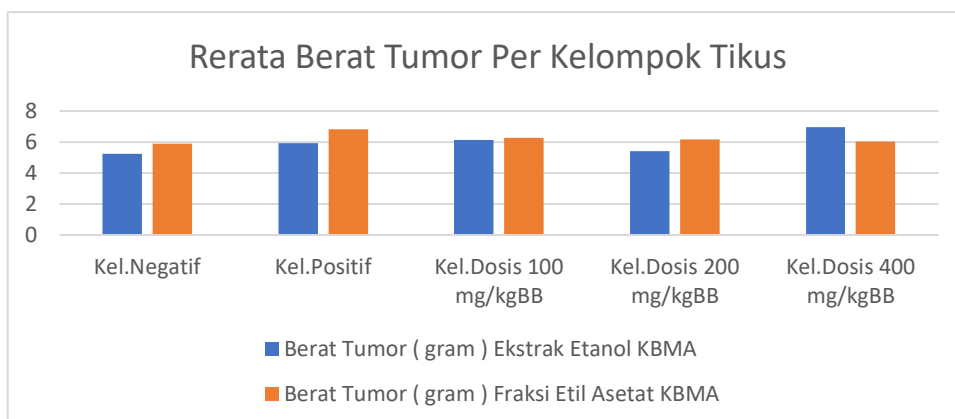
5. Pada pemeriksaan uji fitokimia terhadap fraksi etil asetat kulit buah mangga arumanis didapatkan bahwa fraksi etil asetat kulit buah mangga arumanis mengandung flavonoid, fenolik, steroid, saponin, alkaloid

A. Hasil Uji Farmakologi Antikanker Payudara



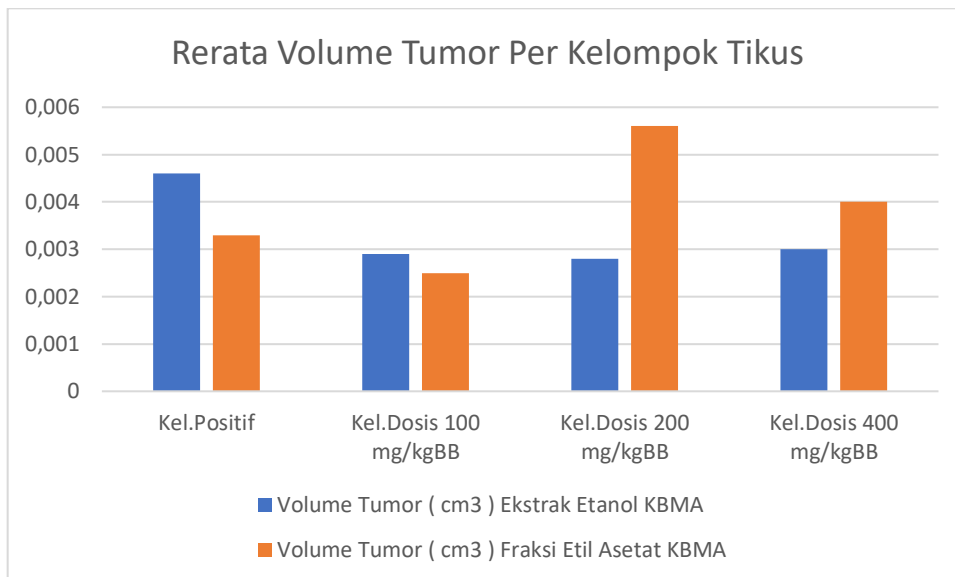
Grafik 1. Rerata Jumlah Tumor Pada Tiap Kelompok

Setelah pengiduksi dilakukan dengan DMBA, pada kelompok positif, kelompok dosis 100 mg/kgBB, kelompok dosis 200 mg/kgBB, dan kelompok dosis 400 mg/kgBB menimbulkan benjolan di sekitar payudaranya sebanyak 1 benjolan.



Grafik 2. Rerata Berat Tumor Per Kelompok

Dapat dianalisis bahwa terjadi kenaikan berat badan secara signifikan pada kelompok positif, kelompok dosis 100 mg/kgBB, kelompok dosis 200 mg/kgBB, dan dosis 400 mg/kgBB, baik pada kelompok utama ekstrak etanol KBMA maupun kelompok utama fraksi etil asetat KBMA, karena ada benjolan.

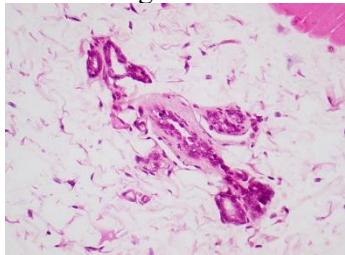


Grafik 3. Rerata Volume Tumor Per Kelompok

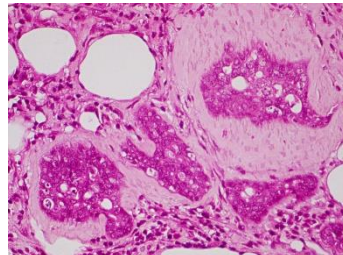
B. Hasil Pemeriksaan Histopatologi Jaringan Payudara Tikus diinduksi DMBA

Ekstrak Etanol KBMA (Perbesaran 40 x)

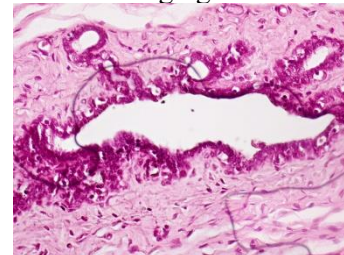
Kontrol Negatif



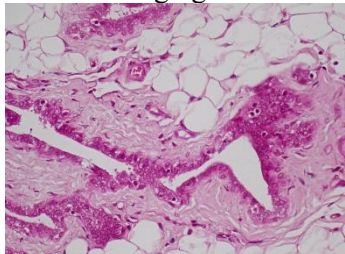
Kontrol Positif



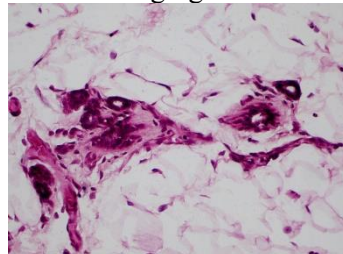
Dosis 100 mg/kgBB



Dosis 200 mg/kgBB



Dosis 400 mg/kg BB

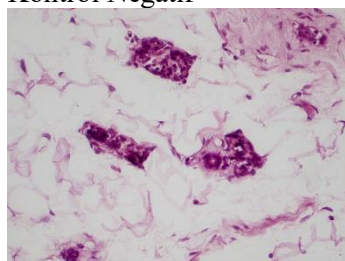


Penilaian histologi efektivitas ekstrak efek sitotoksik ekstrak kulit buah mangga arumanis (*Mangifera indica* L) pada kelenjar susu tikus betina yang diinduksi 7,12 dimetilbenz(a) antrasena (DMBA) memperlihatkan perbedaan antara kelompok kontrol dan perlakuan. Kontrol negatif; kelenjar mammae terdiri atas duktuli dilapisi selapis epitel kuboid, epitel monomorf, Susunan kelenjar seragam, teratur

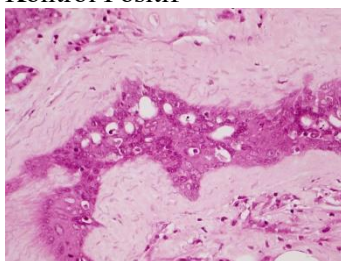
tubular. Stroma disekitarnya terdiri atas jaringan ikat tipis (F) dan jaringan lemak, dengan sel leukosit dan sebaran sel radang dalam batas normal ; Skor; 0, Histologi normal. Kontrol positif; Induksi DMBA memperlihatkan kelenjar mammae dengan duktuli struktur irregular, epitel berlapis memenuhi lumen, sel epitel mengalami dysplasia ditandai sel yang tidak seragam/pleomorfik, sebagian inti jernih, sebagian inti gelap hiperkromatik, mitosis (+), kelompokan sel tumor masih dikelilingi membran basalis. Dan berada dalam duktuli. Stroma sekitarnya terdiri atas jaringan ikat yang fibrosis dengan sebaran padat sel radang . Belum tampak adanya lesi carsinoma mammae invasive dalam eksperimen ini; Skor; 3 (Hyperplasia berat dengan atypia sel). Perlakuan Dosis 100 mg/kgBB :Perlakuan ekstrak mangifera dosis 1; kelenjar mamae dengan hiperplasia, kelenjar bercabang, sebagian epitel berlapis hyperplastik, lumen masih tampak. Stroma sekitarnya terdiri atas jaringan ikat padat yang fibrosis dengan sebaran sedang sel radang ; Skor ; 2 Hyperplasia berat. Perlakuan Dosis 200 mg/kgBB :Perlakuan ekstrak mangifera dosis 2; memperlihatkan perbaikan dibanding kontrol positif. Duktuli kelenjar mamae dengan hiperplasia, kelenjar bercabang, sebagian kecil epitel berlapis hyperplastik (↓), lumen masih tampak. Stroma sekitarnya terdiri atas jaringan ikat fibrosis. sebaran ringan sel radang ;Skor ; 1-2; Hyperplasia ringan Hyperplasia ringan-Hyperplasia berat. Perlakuan Dosis 400 mg/kgBB : Perlakuan ekstrak mangifera dosis 3;; memperlihatkan perbaikan paling baik dibanding kontrol positif. Kelenjar mammae terdiri atas duktuli dilapisi selapis epitel kuboid, epitel monomorf, seragam, susunan tubular teratur. Stroma disekitarnya terdiri atas jaringan ikat tipis (F) dan jaringan lemak, sel radang sedikit ;Skor; 0-1, Normal – hyperplasia ringan

Fraksi Etil Asetat KBMA (Perbesaran 40 x)

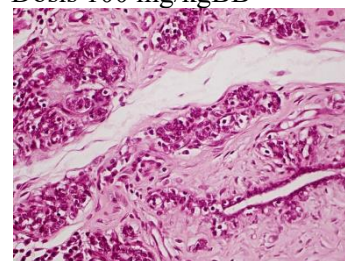
Kontrol Negatif



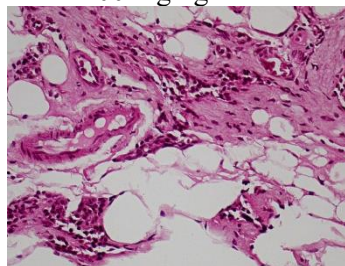
Kontrol Positif



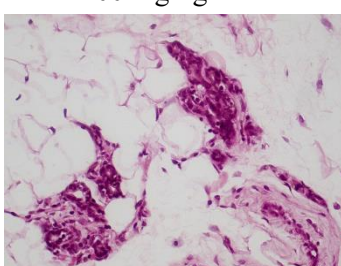
Dosis 100 mg/kgBB



Dosis 200 mg/kgBB



Dosis 400 mg/kg BB



Penilaian histologi efektivitas ekstrak efek sitotoksik ekstrak kulit buah mangga arumanis (*Mangifera indica* L) pada kelenjar susu tikus betina yang diinduksi 7,12 dimetilbenz(a) antrasena (DMBA) memperlihatkan perbedaan antara kelompok kontrol dan perlakuan

Kontrol negatif; kelenjar mammae terdiri atas duktuli dilapisi selapis epitel kuboid, epitel monomorf, Susunan kelenjar seragam, teratur tubular. Stroma disekitarnya terdiri atas jaringan ikat tipis (F) dan jaringan lemak, dengan sel leukosit dan sebaran sel radang dalam batas normal ; Skor; 0, Histologi normal. Kontrol positif ; Induksi DMBA memperlihatkan kelenjar mammae dengan duktuli struktur irregular, epitel berlapis memenuhi lumen, sel epitel mengalami dysplasia ditandai sel yang tidak seragam/pleomorfik, sebagian inti jernih, sebagian inti gelap hiperkromatik, mitosis (+), kelompok sel tumor masih dikelilingi membran basalis. Dan berada dalam duktuli. Stroma sekitarnya terdiri atas jaringan ikat yang fibrosis dengan sebaran padat sel radang . Belum tampak adanya lesi carsinoma mammae invasive dalam eksperimen ini; Skor; 3; (Hyperplasia berat dengan atypia sel). Perlakuan Dosis 100 mg/kgBB ;Perlakuan ekstrak mangifera dosis 1; kelenjar mammae dengan hiperplasia, kelenjar bercabang, sebagian epitel berlapis hyperplastik, lumen masih tampak. Stroma sekitarnya terdiri atas jaringan ikat padat yang fibrosis dengan sebaran sedang sel radang ; Skor ; 2 Hyperplasia berat. Perlakuan Dosis 200 mg/kgBB : Perlakuan ekstrak mangifera dosis 2; memperlihatkan perbaikan dibanding kontrol positif. Duktuli kelenjar mammae dengan hiperplasia, kelenjar bercabang, sebagian kecil epitel berlapis hyperplastik (↓), lumen masih tampak. Stroma sekitarnya terdiri atas jaringan ikat fibrosis. sebaran ringan sel radang ;Skor ; 1; Hyperplasia ringan. Perlakuan Dosis 400 mg/kgBB :Perlakuan ekstrak mangifera dosis 3;; memperlihatkan perbaikan paling baik dibanding kontrol positif. Kelenjar mammae terdiri atas duktuli dilapisi selapis epitel kuboid, epitel monomorf, seragam, susunan tubular teratur. Stroma disekitarnya terdiri atas jaringan ikat tipis (F) dan jaringan lemak, sel radang sedikit ;Skor; 0-1, Hyperplasia ringan -Histologi normal.

Hasil Pemeriksaan In-Silico

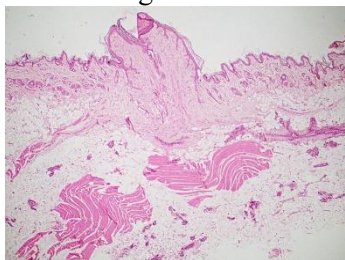
Protein disiapkan dalam bentuk file .pdb, hapus air pada protein lalu pisahkan rantai A dan B. Senyawa yang digunakan dalam docking yaitu Mangiferin dan Quercetin. Sedangkan targetnya yaitu Estrogen Receptor Alpha (ER- α) PDB ID: 3ERT [17], Estrogen Receptor Beta (ER- β) PDB ID: 3OLS [18], HER2 (Human Epidermal Growth Factor Receptor 2) PDB ID: 3PP0 [19]. Preparasi penambatan molekuler diawali dengan memasukkan struktur reseptor dan ligan secara terpisah. Penentuan area penambatan (grid box) dilakukan dengan memusatkannya pada ligan referensi (residue centered box). Untuk protein yang tidak memiliki ligan referensi, grid box ditentukan berdasarkan keseluruhan struktur protein (bounding box). Seluruh proses penambatan molekuler dijalankan menggunakan perangkat lunak AutoDock Vina [20]. Selanjutnya pilih AutoDock Vina dengan preparasi reseptor dan ligan menggunakan AutoDock Tools dan ceklist Use PDBFixer to fix PDB receptor file dan Use PDB2PQR

PEMBAHASAN

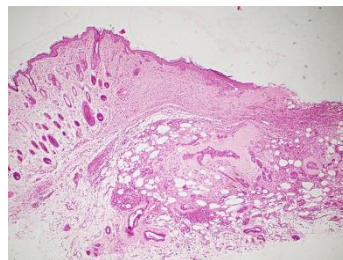
Perlakuan ekstrak mangifera memperlihatkan perbaikan gambaran histologis elenjar mamame paska induksi DMBA. Ditandai berurangnya hyperplasia sampai gambaran yang menyerupai normal, hal ini mungkin disebabkan oleh berbagai hal. Efek sitotoksik pada ekstrak mangifera terhadap sel yang displastik. Serta perangsangan apoptosis sel yang displastik sehingga morfologi normal dapat dikembalikan. Efek sitostatik ekstrak mangifera yang mencegah mitosis dan proliferasi berlebihan sehingga tidak terjadi hyperplasia kelenjar. Efek antioksidan terhadap senyawa induksi pada jaringan sehingga mencegah kerusakan lebih lanjut DNA pada se kelenjar yang dikenai. Efek anti inflammasi yang mencegah peradangan berlebihan yang dapat memicu kerusakan jaringan serta merangsang hyperplasia dan karsinogenesis. Hal ini daat dilihat dari berkurangnya sebaran sel radang serta berkurangnya fibrosis jaringan pada pemberian ekstrak Mangifera. Kemungkinan semua efek diatas bekerja sama dalam menimbulkan perbaikan histologis paska induksi DMBA, namun perlu penelitian lebih lanjut untuk memastikan mekanisme dan patofisiologi molekulernya, serta menentukan zat aktif yang berperan.

Kelompok Ekstrak Etanol (Perbesaran 4)

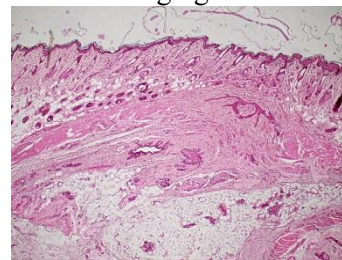
Kontrol Negatif



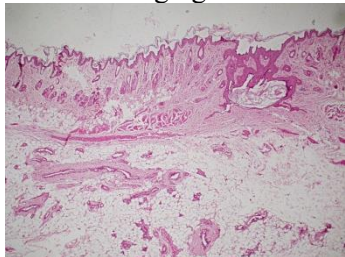
Kontrol Positif



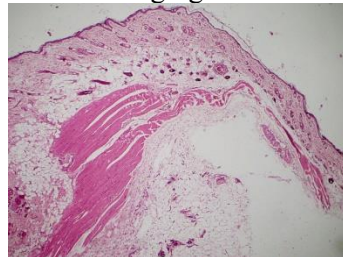
Dosis 100 mg/kgBB



Dosis 200 mg/kgBB



Dosis 400 mg/kg BB

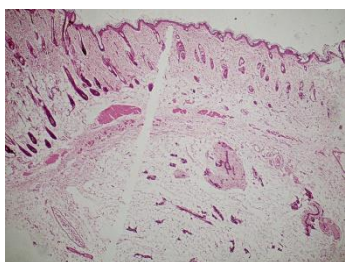


Histologi jaringan mammae hewan coba memperlihatkan epidermis (E), Dermis (D), panniculus carnosus (P), dan Kelenjar mammae (G) dengan duktuli kelenjar dilapisi epitel kuboid. Kelompok kontrol negatif (a,f,k), Kelompok kontrol positif induksi DMBA (b,g,l), perlakuan dosis rendah mangifera (c,h,m). perlakuan dosis rendah mangifera (d,i,n). perlakuan dosis tinggi mangifera (e,j,o). Pada kelompok kontrol negatif tampak duktuli dan lobuli kelenjar mammae dilapisi epitel kuboid selapis dengan morfologi sel normal. Induksi DMBA menunjukan perubahan kelenjarmammae dengan hyperplasia dan displasia berat, kelenjar proliferaatif dengan pertambahan ukuran kelenjar hyperplasia epitel (panah; ↓) dan displasia sel. Sel epitel berlapis, inti vesikuler, khromatin asar sesuai tanda

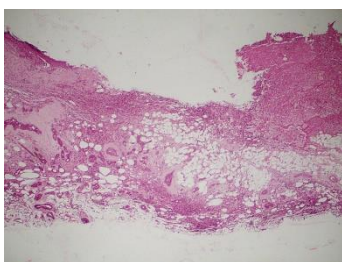
dysplasia dengan atypia (panah ganda; ↓↓), Stroma jaringan ikat fibrosis dengan tanda radang ditandai sebaran sel leukosit (▼) Perlakuan dengan ekstrak mangifera memperlihatkan gambaran histologis kelenjar dengan perubahan lebih ringan dibanding kontrol positif. Sebgiaan epitel atrophy dengan kesan apoptosis Pemberian ekstrak mangifera dosis tinggi memperlihatkan tanda perbaikan jaringan mammae dengan perubahan dysplasia paling rendah dan paling mendekati kontrol negatif.

Fraksi Etil Asetat KBMA (Perbesaran 4x)

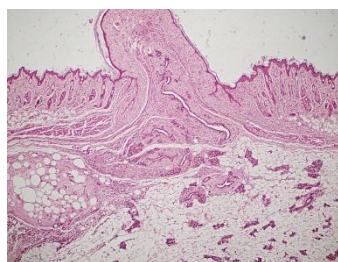
Kontrol Negatif



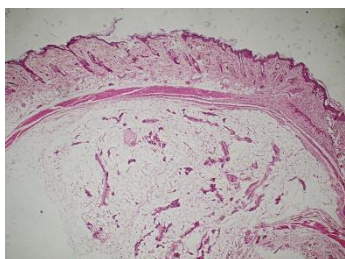
Kontrol Positif



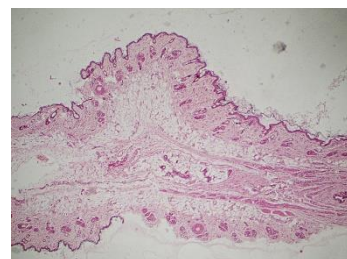
Dosis 100 mg/kgBB



Dosis 200 mg/kgBB



Dosis 400 mg/kg BB



Histologi jaringan mammae hewan coba memperlihatkan epidermis (E), Dermis (D), panniculus carnosus (P), dan Kelenjar mammae (G) dengan duktuli kelenjar dilapisi epitel kuboid. Kelompok kontrol negatif (a,f,k), Kelompok kontrol positif induksi DMBA (b,g,l), perlakuan dosis rendah mangifera (c,h,m). perlakuan dosis rendah mangifera (d,i,n). perlakuan dosis tinggi mangifera (e,j,o). Pada kelompok kontrol negatif tampak duktuli dan lobuli kelenjar mammae dilapisi epitel kuboid selapis dengan morfologi sel normal. Induksi DMBA menunjukan perubahan kelenjarmammae dengan hyperplasia dan displasia berat, kelenjar proliferaatif dengan pertambahan ukuran kelenjar hyperplasia epitel (panah; ↓) dan displasia sel. Sel epitel berlapis, inti vesikuler, khromatin asar sesuai tanda dysplasia dengan atypia (panah ganda; ↓ ↓), Stroma jaringan ikat fibrosis dengan tanda radang ditandai sebaran sel leukosit (▼) Perlakuan dengan ekstrak mangifera memperlihatkan gambaran histologis kelenjar dengan perubahan lebih ringan dibanding kontrol positif. Sebgiaan epitel atrophy dengan kesan apoptosis Pemberian ekstrak mangifera dosis tinggi memperlihatkan tanda perbaikan jaringan mammae dengan perubahan dysplasia paling rendah dan paling mendekati kontrol negatif.

Perlakuan ekstrak mangifera memperlihatkan perbaikan gambaran histologis kelenjar mamae paska induksi DMBA. Ditandai berkurangnya hyperplasia sampai gambaran yang menyerupai normal, hal ini mungkin disebabkan olehh berbgai hal

Efek sitotoksik pada ekstrak mangifera terhadap sel yang displastik. Serta perangsangan apoptosis sel yang displastik sehingga morfologi normal dapat dikembalikan. Efek sitostatik ekstrak mangifera yang mencegah mitosis dan proliferasi berlebihan sehingga tidak terjadi hyperplasia kelenjar. Efek antioksidan terhadap senyawa induksi pada jaringan sehingga mencegah kerusakan lebih lanjut DNA pada se kelenjar yang dikenai. Efek anti inflammasi yang mencegah peradangan berlebihan yang dapat memicu kerusakan jaringan serta merangsang hyperplasia dan karsinogenesis. Hal ini daat dilihat dari berkurangnya sebaran sel radang serta berkurangnya fibrosis jaringan pada pemberian ekstrak Mangifera. Kemungkinan semua efek diatas bekerja sama dalam menimbulkan perbaikan histologis paska induksi DMBA, namun perlu penelitian lebih lanjut untuk memastikan mekanisme dan patofisiologi molekulernya, serta menentukan zat aktif yang berperan

B. Visualisasi dan analisis kompleks protein-ligan juga dilakukan menggunakan software Dockey[22].

Protein yang akan didockingkan dilakukan proses validasi terlebih dahulu untuk membuktikan dan memastikan bahwa metode yang akan digunakan telah memenuhi syarat validitas dan dapat digunakan untuk pengujian senyawa uji serta dapat meminimalisir kesalahan. Proses validasi diperlukan untuk mencari letak konformasi ligan terhadap reseptor dengan memperhatikan koordinat pusat massa struktur dan besar gridbox.

Tabel 1. Tabel nilai RMSD

Kode Protein	Rantai	Nilai RMSD	Ket
3ERT (RE- α)	A	1.23355	valid
3PP0 (HER-2)	A	0.642126	valid
	B	0.727061	valid
3OLS (RE- β)	A	0.400161	valid
	B	0.333006	valid

Metode docking dikatakan reliable / valid apabila nilai RMSD kurang dari 2 Å, yang berarti semakin kecil nilai RMSD semakin dekat posisi ligan bawaan hasil docking dengan ligan bawaan hasil kristalografi. Nilai RMSD dari native ligand (PDB ID: 3ERT, 3PP0, 3OLS) menunjukkan nilai dibawah 2 Å yang berarti dalam kondisi ligan yang fleksibel. Kondisi ligan fleksibel memungkinkan ligan untuk melakukan penyesuaian struktur demi mencapai konformasi yang stabil saat berikatan dengan sisi aktif reseptor.

Metode docking dikatakan reliable / valid apabila nilai RMSD kurang dari 2 Å, yang berarti semakin kecil nilai RMSD semakin dekat posisi ligan bawaan hasil docking dengan ligan bawaan hasil kristalografi. Nilai RMSD dari native ligand (PDB ID: 3ERT, 3PP0, 3OLS) menunjukkan nilai dibawah 2 Å yang berarti dalam kondisi ligan yang fleksibel. Kondisi ligan fleksibel memungkinkan ligan untuk melakukan penyesuaian struktur demi mencapai konformasi yang stabil saat berikatan dengan sisi aktif reseptor.

Tabel 2. Nilai Binding Affinity Protein Target (PDB ID 3EERT, 3PP0, 3OLS) terhadap Native Ligand, Senyawa Mangiferin dan Senyawa Quarcetin

Kode Protein	Rantai	Nilai RMSD	Ket
3ERT (RE- α)	A	1.23355	valid
3PP0 (HER-2)	A	0.642126	valid
	B	0.727061	valid
3OLS (RE- β)	A	0.400161	valid
	B	0.333006	valid

Hasil simulasi docking menunjukkan senyawa Mangiferin memiliki nilai binding affinity lebih tinggi dibandingkan dengan native ligand pada ketiga protein target (PDB ID: 3ERT, 3PP0, 3OLS). Hal ini menunjukkan ikatan senyawa mangiferin dengan ketiga protein target lebih stabil dibandingkan ikatan reseptor dan native ligandnya. Sementara itu, hasil docking untuk senyawa Quarcetin memiliki skor lebih rendah daripada native ligand ketiga protein target, menunjukkan ikatan reseptor dan negative ligand lebih stabil dibandingkan reseptor dan senyawa Quarcetin. Dari ketiga protein target, protein HER2 (Human Epidermal Growth Factor Receptor 2) PDB ID: 3PP0 memiliki nilai paling negative pada rantai A -11.13 kkal/mol dan rantai B -10.76 kkal/mol dibandingkan dengan kedua protein target lainnya. Dapat disimpulkan bahwa senyawa Mangiferin membentuk ikatan yang paling stabil dengan reseptor dibandingkan dengan reseptor dengan ligand asli dan senyawa Quarcetin.

SIMPULAN

Ekstrak etanol dan fraksi etil asetat KBMA menurunkan berat benjolan kelenjar payudara, volume kelenjar susu, serta memperbaiki gambaran histopatologi apoptosis sel epitel kelenjar payudara pada tikus betina kanker payudara. Ekstrak etanol dan Fraksi Etil Asetat KBMA memberi hasil yang sangat bagus keduanya, dimana senyawa mangiferin terikat paling stabil dengan RE- α , RE- β , dan HER-2 dibandingkan ligand asli dan quercetin.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih banyak kepada Kemendiknas yang telah memberikan pendanaan kepada saya dalam Hibah DIKTI 2025 skema PDP, semoga dapat memberikan sumbangsih dan manfaat untuk Masyarakat, Bangsa, dan Negara.

REFERENSI

- [1] Z. Hamidia, K. Shahanipour, N. Talebian, and R. Monajemi, 2022. Preparation of chelidone highly loaded poly(lactide-co-glycolide)-based nanoparticles using a single emulsion method: Cytotoxic effect on MDA-MB-231 cell line, *Journal of HerbMed Pharmacology*, vol. 11, no. 1, pp. 114–120, doi: 10.34172/jhp.2022.13.

- [2] A. Budny et al., 2019. Epidemiology and diagnosis of breast cancer., Poland.
- [3] N.Yanti, 2022. Cegah Kanker Payudara Sejak Remaja dengan Menerapkan Pemeriksaan Payudara Sendiri (SADARI), Jurnal Abdimas ITEKES Bali, vol. 1, pp. 125–136, Apr. 2022, doi: 10.37294/jai.v1i2.381.
- [4] Ifmaily and Oktafera, 2025. Cytotoxic Potential of *Mangifera indica* L var Arumanis Rind Extract and Fraction Against T47D Cells with Microtetrazolium (MTT) Method,” Journal of Pharmaceutical and Health Research, vol. 6, no. 1,, doi: 10.47065/jharma.v6i1.6984.
- [5] Ifmaily, BA.Martinus, and A. Rahmawati, 2024. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Buah Mangga Arumanis (*Mangifera Indica* L.) dengan Metode DPPH Serta Uji Toksisitasnya, Jurnal Ventilator, vol. 2, no. 3, pp. 392–399, Sep., doi: 10.59680/ventilator.v2i3.1438.
- [6] P. E. Wuyung, 2016. Induksi DMBA dalam Karsinogenesis kelenjar Payudara.
- [7] M. Ambroise, M. Ghosh, V. S. Mallikarjuna, and A. Kurian, 2011. Immunohistochemical profile of breast cancer patients at a tertiary care hospital in South India. Asian Pac J Cancer Prev, vol. 12, no. 3, pp. 625–629.
- [8] M. Surakarta Warjianto, W. Soewoto, U. Alifianto, and H. Wujoso, 2020. Hubungan Reseptor Estrogen, Reseptor Progesteron dan Ekspresi Her-2/Neu Dengan Grading Histopatologi pada Pasien Kanker Payudara di RSUD dr,” SMedJour, vol. 3, no. 2, pp. 2621–0916, doi: 10.13057/smj.v3i1.35228.
- [9] M. A. Reynaldi and A. Setiawansyah, 2022. Potensi anti-kanker payudara tanaman songga (*Strychnos lucida* R.Br): Tinjauan interaksi molekuler terhadap reseptor estrogen- α in silico, Sasambo Journal of Pharmacy, vol. 3, no. 1, pp. 30–35, April 2022, doi: 10.29303/sjp.v3i1.149.
- [10] J. Malau et al., 2022. Artikel Review : Kajian Molekuler Obat Pada Kanker Payudara, Jurnal Pendidikan dan Konseling (JPDK), vol. 4, no. 6, pp. 11032–11041, Dec. 2022, doi: 10.31004/jpdk.v4i6.10187.
- [11] T. M and U. Toyibah, 2020. Aktivitas Antioksidan Kulit Buah Mangga Arumanis (*Mangifera Indica* L. Var. Arumanis) Dengan Metode DPPH, Jurnal Kesehatan Farmasi, vol. 2, no. 1.
- [12] K. Ayyun et al., 2023. Artikel Riview: Profil Studi Fitokimia Dan Aktivitas Farmakologi Buah Mangga (*Mangifera Indica* L.), Jurnal Sains Farmasi Dan Kesehatan, vol. 1, no. 2 SE-Articles, pp. 60–68, Nov. 2023, doi: 10.62379/jfkes.v1i2.346.
- [13] A. R. Abubakar and M. Haque, 2020. Preparation of Medicinal Plants: Basic Extraction and Fractionation Procedures for Experimental Purposes.,” J Pharm Bioallied Sci, vol. 12, no. 1, pp. 1–10, doi: 10.4103/jpbs.JPBS_175_19.
- [14] Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2017. Farmakope Herbal Indonesia Edisi II. Jakarta

- [15] Alison Y.Ting^{1,2}, Bruce F.Kimler^{1,4}, Carol J.Fabian^{1,3} and Brian K.Petroff^{1,3,5}; . 2007. Characterization of a preclinical model of simultaneous breast and ovarian cancer progression; *Carcinogenesis* vol.28 no.1 pp.130–135, doi:10.1093/carcin/bgl1140
- [16] Agung Eru Wibowo^{1,*}, Sriningsih¹, Puspita Eka Wuyung², Raafqi Ranasasmita³; 2010. The Influence of DMBA (7,12-dimethylbenz-[a]anthracene) Regimen In The Development of Mammary Carcinogenesis on Sprague Dawley Female Rat; *Indonesian Journal of Cancer Chemoprevention*, February.
- [17] Shiau AK, Barstad D, Loria PM, Cheng L, Kushner PJ, Agard DA, et al. 1998. The structural basis of estrogen receptor/coactivator recognition and the antagonism of this interaction by tamoxifen. *Cell* ;95:927–37. [https://doi.org/10.1016/S00928674\(00\)81717-1](https://doi.org/10.1016/S00928674(00)81717-1).
- [18] Möcklinghoff S, Rose R, Carraz M, Visser A, Ottmann C, Brunsvelde L. 2010. Synthesis and Crystal Structure of a Phosphorylated Estrogen Receptor Ligand Binding Domain. *ChemBioChem* ;11:2251–4. <https://doi.org/10.1002/cbic.201000532>.
- [19] Aertgeerts K, Skene R, Yano J, Sang B-C, Zou H, Snell G, et al. 2011. Structural Analysis of the Mechanism of Inhibition and Allosteric Activation of the Kinase Domain of HER2 Protein. *J Biol Chem* ;286:18756–65. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.206193>.
- [20] Eberhardt J, Santos-Martins D, Tillack AF, Forli S. 2021. AutoDock Vina 1.2.0: New Docking Methods, Expanded Force Field, and Python Bindings. *J Chem Inf Model* ;61:3891–8. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.1c00203>.
- [21] Dolinsky TJ, Nielsen JE, McCammon JA, Baker NA. 2004. PDB2PQR: An automated pipeline for the setup of Poisson-Boltzmann electrostatics calculations. *Nucleic Acids Res* ;32. <https://doi.org/10.1093/nar/gkh381>.
- [22] Du L, Geng C, Zeng Q, Huang T, Tang J, Chu Y, et al. 2023. Dockey: a modern integrated tool for large-scale molecular docking and virtual screening. *Brief Bioinform* ;24. <https://doi.org/10.1093/bib/bbad047>.