

## PEMODELAN MOLEKUL DAN MOLEKULAR DINAMIK PUTIK BUNGA SAFRON (*Crocus sativus* L.) SEBAGAI KANDIDAT OBAT ANTIKANKER PAYUDARA

Ria Indah Kusuma Pitaloka<sup>1</sup>, Dini Kesuma<sup>2\*</sup>, Azminah<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Magister Farmasi Industri, Fakultas Farmasi, Universitas Surabaya

<sup>2</sup>Departemen Kimia Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Surabaya

\*Email: dinikesuma75@gmail.com

Received: 19/08/2023 , Revised: 29/08/2023 , Accepted: 29/08/2023, Published: 31/08/2023

### ABSTRAK

Kanker payudara adalah tumor ganas yang terbentuk dari sel-sel payudara yang berkembang tanpa terkendali. Doxorubicin merupakan antibiotik golongan antrasiklin yang banyak digunakan untuk kemoterapi pada kanker payudara namun menyebabkan kardiotsitasitas. Tujuan penelitian ini adalah menemukan senyawa sebagai kandidat obat antikanker payudara yang berasal dari metabolit sekunder putik bunga saffron (*Crocus sativus* L) secara *in silico*. Analisis metabolit sekunder dilakukan dengan prediksi *druglikeness*, ADME-Tox, dan uji aktivitas metabolit sekunder dengan metode *molecular docking* menggunakan program *AutoDock Vina* dengan reseptor SIRT1 (PDB: 4I5I). Tahap selanjutnya dilakukan uji stabilitas dengan *molecular dynamic* menggunakan program CHARMM-GUI dan GROMACS yang terdiri dari RMSD, RMSF, jari-jari girasi, SASA dan ikatan hydrogen. Hasil *molecular docking* menunjukkan metabolit sekunder terbaik putik bunga saffron (*Crocus sativus* L) yaitu *Scutellarein 7-methyl ether 6-glucoside* ( $\Delta G = -11,53$  kkal/mol) terhadap senyawa pembanding doxorubicin ( $\Delta G = -9,46$  kkal/mol). Hasil interaksi ikatan senyawa *Scutellarein 7-methyl ether 6-glucoside* dengan reseptor 4I5I menunjukkan adanya ikatan hydrogen pada asam amino ASP A:348; ILE A:347; ikatan hidrofobik pada asam amino PHE A:273; PHE A:297. Senyawa *Scutellarein 7-methyl ether 6-glucoside* selama simulasi menunjukkan hasil RMSD yang relatif stabil dengan selisih nilai RMSD pada kisaran 0,15-0,3 Å; nilai RMSF; nilai jari-jari girasi; nilai SASA, ikatan hydrogen yang relatif stabil tanpa adanya fluktuasi selama waktu simulasi berjalan hingga 20ns. Diharapkan pada penelitian lebih lanjut dilakukan uji *in vitro* terhadap senyawa *Scutellarein 7-methyl ether 6-glucoside* yang berpotensi sebagai aktivator SIRT1.

**Kata kunci** : Antikanker payudara, *Crocus sativus* L., *In Silico*

### ABSTRACT

*Breast cancer is a malignant tumor that is formed from breast cells that develop uncontrollably. Doxorubicin is an anthracycline class of antibiotics which is widely used for chemotherapy in breast cancer but causes cardiotoxicity. The aim of this study was to find compounds as breast anticancer drug candidates derived from in silico secondary metabolites of saffron flower pistil (Crocus sativus L). Analysis of secondary metabolites was carried out by predicting druglikeness, ADME-Tox, and testing the activity of secondary metabolites by molecular docking method using the AutoDock Vina program with the SIRT1 receptor (PDB: 4I5I). The*

next step was to test the stability with molecular dynamics using the CHARMM-GUI and GROMACS programs which consisted of RMSD, RMSF, radius of gyration, SASA and hydrogen bonds. Molecular docking results showed that the best secondary metabolite of saffron flower pistil (*Crocus sativus* L) was Scutellarein 7-methyl ether 6-glucoside ( $\Delta G = -11.53$  kcal/mol) against doxorubicin ( $\Delta G = -9.46$  kcal/mol). . The results of the interaction between the Scutellarein 7-methyl ether 6-glucoside compound and the 4I5I receptor indicate the presence of hydrogen bonds in the amino acid ASP A:348; ILE A:347; hydrophobic bond on the amino acid PHE A:273; PHE A:297. The Scutellarein 7-methyl ether 6-glucoside compound during the simulation produces a relatively stable RMSD graph with a difference in RMSD values in the range of 0.15-0.3 Å; RMSF value; gyration radius value; SASA values, relatively stable hydrogen bonds without any fluctuation during the simulation time up to 20ns. It is hoped that in further research, in vitro and in vivo tests will be carried out on the compound Scutellarein 7-methyl ether 6-glucoside which has the potential to act as a SIRT1 activator.

**Keywords:** Anticancer of the breast, *Crocus Sativus* L, In Silico

## PENDAHULUAN

Prevalensi kanker di Indonesia, berdasarkan data dari Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas), terjadi peningkatan dari 1,4 per 1.000 jiwa di tahun 2013 menjadi 1,79 per 1.000 jiwa pada tahun 2018. Angka kejadian kanker di Indonesia pada tahun 2020 mencapai 396.914 kasus dengan total kematian sebesar 234.511 kasus, dengan kasus terbanyak adalah kanker payudara yaitu serbesar 65.858 kasus (16,6%) dan angka kematian akibat kanker payudara adalah lebih dari 22 ribu jiwa dari total kasus kanker (*Globocan*, 2020).

Terapi yang dapat diberikan pada kanker payudara adalah operasi, radioterapi, kemoterapi, terapi hormon, dan *targeted therapy*, yang dapat diberikan sesuai dengan kondisi pasien dan karakteristik sel kanker

seperti stadium klinis dan profil molekuler biomarker (National Health Service, 2019)

Kegagalan dari terapi antikanker dapat disebabkan oleh Sel kanker cepat menjadi tidak sensitif terhadap obat antikanker, belum adanya cara yang ideal untuk memperkirakan kegunaan terapeutik obat antikanker. Banyak antikanker yang memiliki efek samping teratogenik, mutagenik, bahkan karsinogenik.

Peneliti tertarik untuk mengembangkan obat dari bahan alam khususnya dari tanaman karena memiliki metabolit sekunder yang mempunyai banyak manfaat. Salah satu tanaman yang sempat viral untuk dijadikan rempah-rempah serta kosmetik namun ternyata mempunyai manfaat untuk kesehatan salah satunya yaitu sebagai antikanker payudara adalah putik bunga saffron (*Crocus sativus* L). Sifat anti kanker disebabkan saffron mengandung

*apocarotenoid* yang terdapat pada putik bunga saffron (Rubio-Moraga *et al.*, 2011).

Eksrak saffron secara *in vitro* telah diujikan dengan konsentrasi 200-2000 microgram/ml dapat menurunkan viabilitas sel MCF-7 pada dosis waktu IC<sub>50</sub> 400 +/- 18,5 mikrog / ml setelah 48 jam. Saffron memberikan efek proapoptosis pada lini sel yang diturunkan dari kanker payudara dan dapat dianggap sebagai agen kemoterapi potensial pada kanker payudara (M.N. Afifah, 2020).

Keterbaruan dari penelitian ini yaitu untuk melihat uji aktivitas antikanker payudara dari metabolit sekunder putik bunga saffron (*Crocus sativus* L.) secara *in silico* serta melihat stabilitas kompleks ligan asli dan senyawa dari metabolit sekunder putik bunga saffron melalui *molecular dynamic*.

Pada penelitian ini, analisis bioavailabilitas meliputi ADME (*Absorbtion, Distribution, Metabolism, Excretion*) dari metabolit sekunder pegagan secara *in silico*, menggunakan program ADMETlab, analisis toksisitasnya menggunakan program pKCSM (*Predicting Small-Molecule Pharmacokinetic and Toxicity Properties using Graph-Based Signatures*), dan prediksi *druglikeness* menggunakan program *Molsoft*.

Uji aktivitas antikanker payudara pada penelitian ini dilakukan secara *in silico* terhadap target reseptor SIRT1 (kode PDB: 4I5I.pdb) dengan obat pembanding doxorubicin menggunakan program *Autodock Vina*. Kandidat metabolit sekunder dengan nilai energi ikatan terbaik kemudian dilakukan analisis *molecular dynamic* menggunakan program CHARMM-GUI melalui link website <https://www.charmm-gui.org/> dan Gromacs 2021.5 untuk melihat interaksi dan stabilitas ligan dengan protein target dalam rentang waktu tertentu dengan parameter RMSD, RMSF, jari-jari girasi, SASA dan ikatan hidrogen.

## **METODE PENELITIAN**

### **Alat dan Bahan**

Bahan yang digunakan untuk prediksi ADME-Tox dan uji aktivitas antikanker payudara dari metabolit sekunder putik bunga saffron (*Crocus sativus* L) secara *in silico* menggunakan program:

- 1). Basis data metabolit sekunder putik bunga saffron (*Crocus sativus* L) didapatkan dari *web online* KNapSack Family melalui link [http://www.knapsackfamily.com/KNApSack\\_Family/](http://www.knapsackfamily.com/KNApSack_Family/)

2). Basis data makromolekul didapatkan dari situs *web online* Protein Data Bank (PDB) menggunakan kode PDB 4I5I yang dapat diakses dalam situs <https://www.rcsb.org/structure/4I5I>.

3). Struktur obat perbandingan doxorubicin didapatkan melalui link <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/31703>

Alat dan program yang digunakan dalam penelitian ini yaitu:

1). Perangkat komputer. Perangkat yang dipakai dalam penelitian ini yaitu PC Universitas Surabaya.

2). Laptop HP dengan prosesor Intel Core i7 9th Gen, RAM 16 GB, penyimpanan SSD 512 GB, system operasi *Windows* 11 64 bit.

3). Studi literature dengan program *Publish or Perish* dan *Vosviewer*. Analisis bibliometrik dilakukan dengan menggunakan literatur yang terdapat pada Google Scholar.

4). Program untuk mendapatkan struktur satu dimensi (\*.SMILES) dari metabolit sekunder putik bunga saffron (*Crocus sativus* L) menggunakan *web online PubChem* melalui link <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>

5). Program untuk visualisasi struktur 2D (\*.mol) dari simplisia putik bunga

saffron (*Crocus sativus* L.) menggunakan program *MarvinSketch Version* 19.22 yang diunduh melalui link <https://chemaxon.com/products/marvin>. Visualisasi Struktur 3D (\*.mol2) menggunakan program *BIOVIA Discovery Studio Visualizer* 2021 yang diunduh melalui link <https://discover.3ds.com/discovery-studio-visualizer>. Minimisasi struktur 3D (\*.mol2) menggunakan MMFF94.

6). Database HMDB, PMDB, dan Google Scholar. Program ini digunakan untuk penggolongan metabolit sekunder putik bunga saffron (*Crocus sativus* L.)

7). Prediksi sifat fisikokimia menggunakan program *web online ADMETlab* 2.0 melalui <https://admetmesh.scbdd.com> untuk memperoleh data LogP, HBA, HBD, MW, TPSA dan RB.

8). Program analisis *drug-likeness* menggunakan menggunakan program *web online ADMETlab* 2.0 melalui <https://admetmesh.scbdd.com>

9). Program prediksi Bioavailabilitas (ADME) dengan program *ADMETlab* melalui link <http://admet.scbdd.com/>

10). Program prediksi toksisitas dari senyawa melalui link *ADMETlab* melalui link <http://admet.scbdd.com/>.

- 11). Program untuk analisis interaksi protein-protein menggunakan basis data *string*, melalui link <https://string-db.org/>
- 12). Program *AutoDock Vina* digunakan untuk program penambatan molecular.
- 13). Program untuk melihat interaksi antara ligan dengan reseptor menggunakan *Biovia Discovery Studio Visualizer 2021*
- 14). Program analisis *molecular dynamic* menggunakan CHARMM-GUI melalui link website <https://www.charmm-gui.org/> dan GROMACS

#### Jalannya Penelitian

1. Basis Data Metabolit Sekunder *Crocus sativus L* menggunakan alat bantu berbasis web yaitu KNapSacK Family, melalui link <http://www.Knapsackfamily.com/>
2. Membuat Struktur 2D dan 3D pada Hasil Metabolit Sekunder Putik Bunga Saffron (*Crocus sativus L*) menggunakan alat bantu berbasis web yaitu PubChem melalui link <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> untuk mendapatkan struktur \*.smiles. Tahap berikutnya digambar menggunakan program *MarvinSketch 20.8* untuk struktur 2D.
3. Struktur Tiga Dimensi (3D) Paling Stabil Metabolit Sekunder Putik Bunga

Saffron (*Crocus sativus L.*) meminimasi energi dengan medan gaya (*force field*) seperti medan gaya mekanika molekular (*molecular-mechanics force fields*, MMFF94)

4. Analisis Sifat Fisiko Kimia, *druglikeness* dan ADMET Hasil Metabolit Sekunder Putik Bunga Saffron (*Crocus sativus L.*) untuk memperoleh data XLogP3, HBA, 52 HBD, MW, TPSA dan RB menggunakan *web online ADMETlab 2.0* melalui <https://admetmesh.scbdd.com>
5. Analisis Toksisitas Hasil Metabolit Sekunder Putik Bunga Saffron (*Crocus sativus L.*) menggunakan program *ProTox-II* melalui link [http://toxnew.charite.de/prottox\\_II/](http://toxnew.charite.de/prottox_II/)
6. Uji Aktivitas Hasil Metabolit Sekunder putik bunga saffron (*Crocus sativus L.*) dengan Metode *In Silico*, menggunakan program *Autodock Vina*.
7. Analisis *molecular dynamic* menggunakan CHARMM-GUI melalui link website <https://www.charmm-gui.org/> dan Gromacs 2021.

#### Analisis Data

Analisis data prediksi sifat fisikokimia dan aktivitas yang diperoleh dibuat dalam bentuk deskriptif. Analisis data prediksi *drug-likeness* diolah dalam dua bentuk

diagram yaitu diagram radar dan diagram batang.

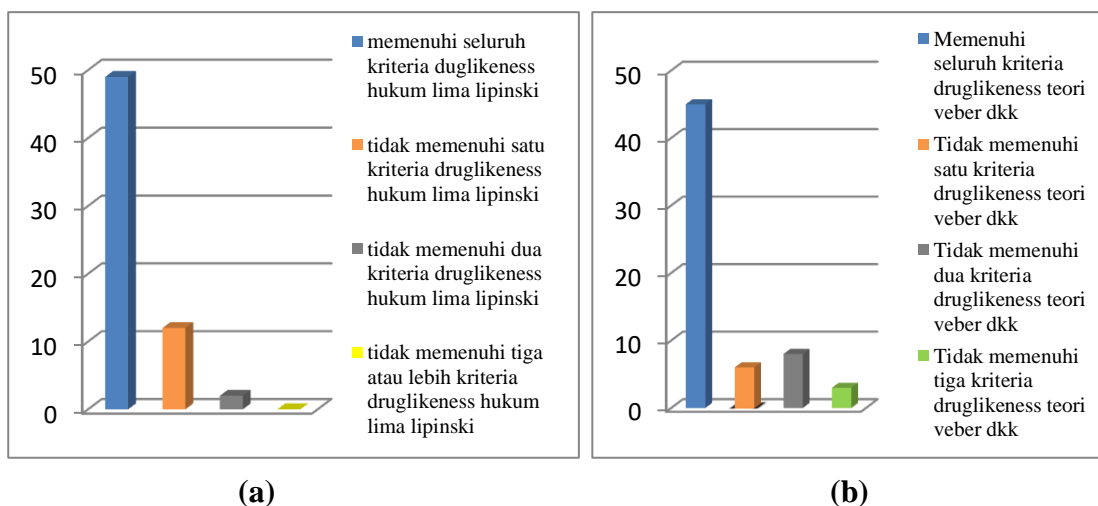
Analisis data uji aktivitas antikanker payudara dari metabolit sekunder putik bunga saffron (*Crocus sativus* L) secara *molecular docking* menggunakan grafik dua dimensi antara  $\Delta G$  senyawa dengan ligan asli terhadap persentase kesesuaian interaksi ligan reseptor dengan ligan asli.

Analisis data uji stabilitas terhadap metabolit sekunder putik bunga saffron (*Crocus sativus* L) dengan energi ikatan terbaik yang membentuk kompleks dengan reseptor SIRT1 disajikan dalam bentuk grafik, dimana terdapat lima grafik yaitu grafik RMSD, jari-jari girasi, SASA dan ikatan hidrogen dengan lama waktu simulasi

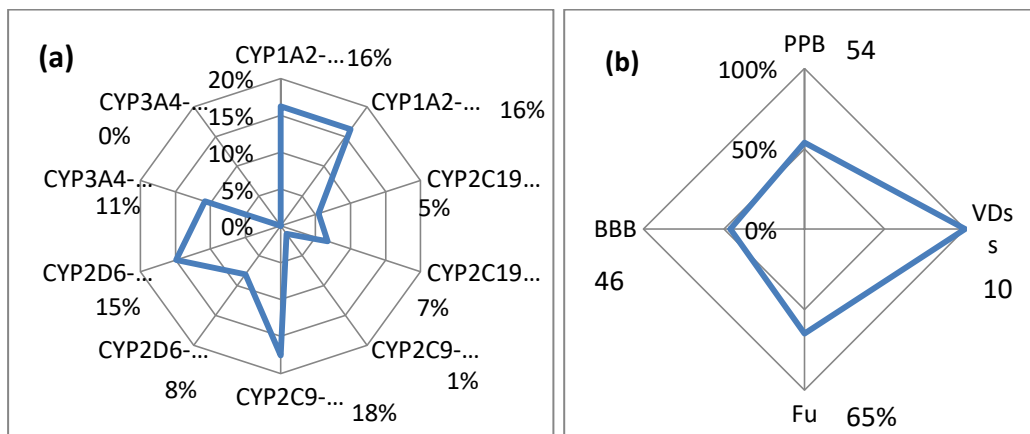
dalam nanodetik sebagai sumbu x, dan nilai RMSD, jari-jari girasi, SASA dan ikatan hidrogen sebagai sumbu y. Grafik RMSF dengan nomor asam amino sebagai sumbu x dan nilai RMSF sebagai sumbu y.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Metabolit sekunder putik bunga saffron (*Crocus sativus* L.) diperoleh sebanyak 74 metabolit sekunder dari basis data KNapSacK Family. Tahap selanjutnya dilakukan analisis *druglikeness* menurut hukum lima Lipinski dan teori veber menunjukkan hasil dalam bentuk diagram batang yang dapat dilihat pada gambar 1 a dan b.



**Gambar 1.** (a) Analisis Diagram Batang Jumlah Metabolit Sekunder Putik Bunga Saffron (*Crocus sativus* L) yang Memenuhi Kriteria *Druglikeness* Menurut Hukum Lima Lipinski Berdasarkan Kategori Ketidaksesuaiannya. (b) Analisis Diagram Batang Jumlah Metabolit Sekunder Putik Bunga Saffron (*Crocus Sativus* L) yang Memenuhi Kriteria *Druglikeness* Menurut Teori Veber dkk Berdasarkan Kategori Ketidaksesuaiannya



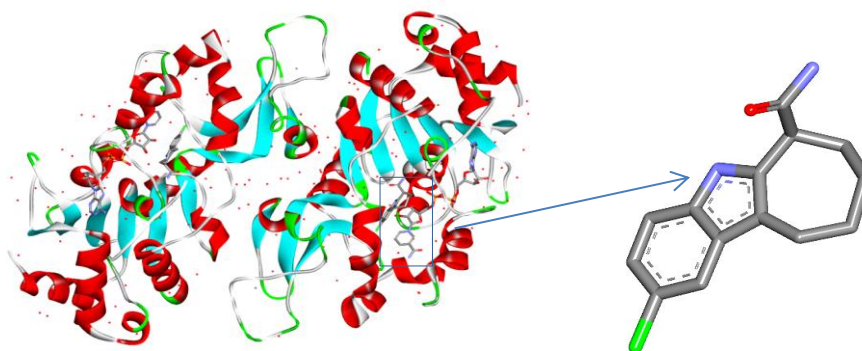
**Gambar 2.** Diagram Radar Persentase Metabolit Sekunder Putik Bunga Saffron (*Crocus sativus* L.) yang Memenuhi Persyaratan (a) Absorpsi (b) Distribusi

Analisis ADME (Absorpsi, Distribusi, Metabolisme dan Eksresi) menunjukkan Sebanyak 83 % metabolit sekunder memiliki absorpsi dan metabolisme yang baik. Hasil ditunjukkan dengan diagram radar pada gambar 2 (a) dan (b).

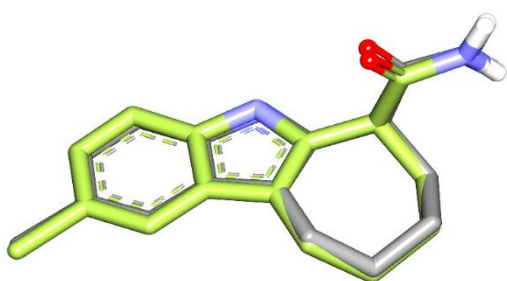
Hasil prediksi LD<sub>50</sub> berdasarkan *PROTOX-II* menunjukkan bahwa terdapat 3 senyawa dari metabolit sekunder putik bunga saffron (*Crocus sativus* L) yang toksik jika tertelan ( $50 < LD_{50} \leq 300$  mg/kg), 9 senyawa yang berbahaya jika tertelan ( $300 < LD_{50} \leq 2000$  mg/kg) dan 18 senyawa yang kemungkinan berbahaya jika tertelan. Hasil prediksi LD<sub>50</sub> untuk senyawa dari metabolit sekunder putik bunga saffron (*Crocus sativus* L) didapati bahwa terdapat 8 senyawa yang berbahaya jika tertelan ( $300 < LD_{50} \leq 2000$  mg/kg) dan 22 ( $2000 < LD_{50} \leq 5000$  mg/kg) senyawa yang

kemungkinan berbahaya jika tertelan.

Pemisahan reseptor target SIRT1 (Kode PDB: 4I5I) dengan ligan dilakukan dengan menggunakan program *AutoDock Tools-1.5.6* dan divisualisasi dengan program *BIOVIA Discovery Studio Visualizer 2021* ditunjukkan pada gambar 3.



**Gambar 3.** Pemisahan Makromolekul dan Ligan Asli (4I5) dari Reseptor SIRT1 (4I5I)



**Gambar 4.** Visualisasi Struktur Ligan Asli (4I5) (Abu-abu) dan Redocking Ligan Hasil Molecular Docking (Hijau) nilai RMSD yang diperoleh sebesar 0,03 Å.

Tahap selanjutnya dilakukan validasi metode *molecular docking* pada 4I5I terhadap ligan asli 4I5, menggunakan ukuran *gridbox* 13x19x16 dan *gridcenter* x = 42.2; y = -20.94; z = 18.51; menunjukkan nilai RMSD yang diperoleh sebesar 0,03 Å. Hasil redocking menunjukkan nilai RMSD < 2, maka validasi memenuhi persyaratan *molecular docking* yang ditunjukkan pada gambar 4.

Hasil *molecular docking* metabolit sekunder putik bunga saffron (*Crocus*

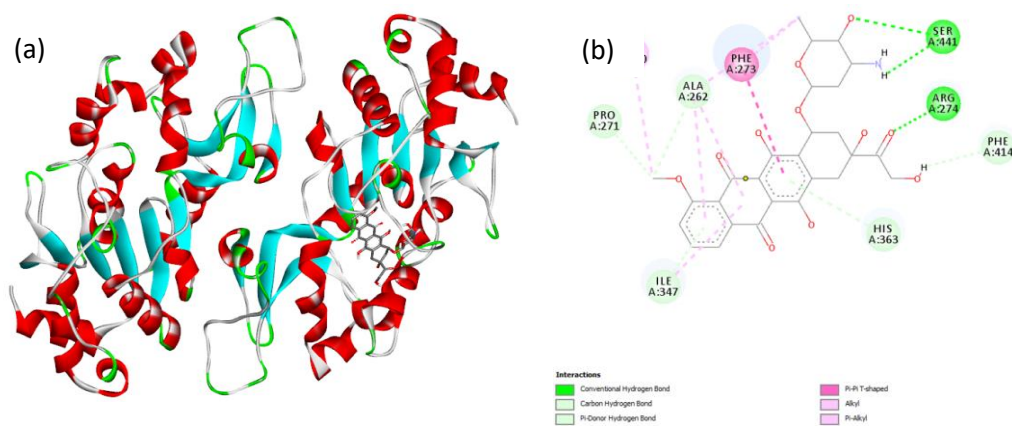
*sativus* L.) dari 74 senyawa terhadap reseptor 4I5I terdapat 6 senyawa yang mempunyai energy ikatan yang lebih baik dari obat pembanding doxorubicin. Hasil energy ikatan senyawa dapat dilihat pada table 1. Dari table 1 dapat dilihat bahwa senyawa Scutellarein 7-methyl ether 6-glucoside menunjukkan energy ikatan yang terbaik -11,53 kkal/mol.

Hasil interaksi ikatan senyawa Scutellarein 7-methyl ether 6-glucoside dengan reseptor 4I5I menunjukkan adanya ikatan hydrogen pada asam amino ASP A:348; ILE A:347; ikatan hidrofobik pada asam amino PHE A:273; PHE A:297 ditunjukkan pada gambar 7. Interaksi ikatan ini memenuhi persyaratan ikatan asam amino penting pada literature.



**Tabel 1.** Hasil Energi Ikatan Metabolit Sekunder putik bunga saffron (*Crocus Sativus L*) Ligan Asli, dan Obat Pembeding dengan Reseptor SIRT1 4I5I (4I5)

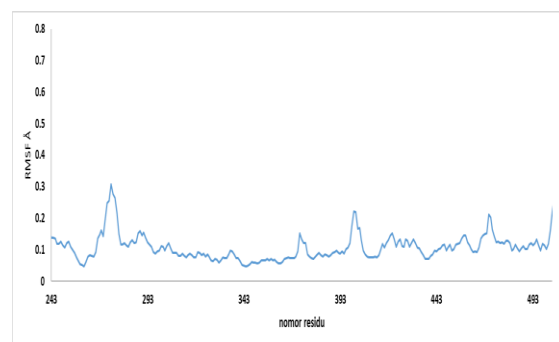
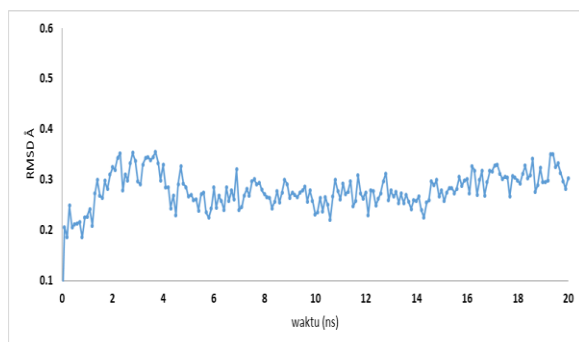
Nama Senyawa	Energi Ikatan (kkal/mol)
Scutellarein 7-methyl ether 6-glucoside	-11,53
Kaempferol 3-O-sophoroside	-10,92
Apigenin 7-sophoroside	-10,48
15,15'-cis-Phytoene	-10,34
Hirsutrin	-10,33
Myricetin	-10,05
<b>Obat Pembeding</b>	
Doxorubicin	-9,46

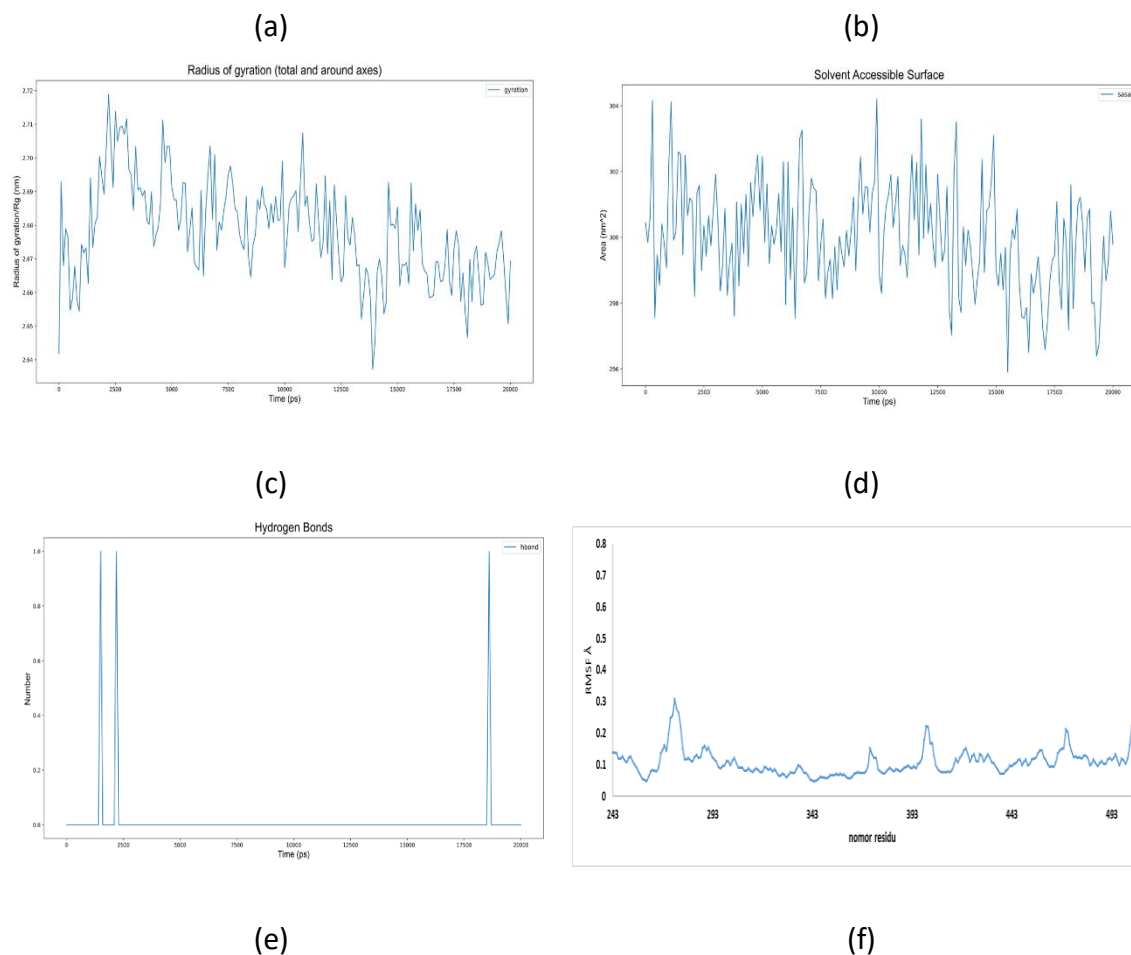


**Gambar 5.** Hasil Visualisasi Interaksi Antara Reseptor 4I5I dengan senyawa *Scutellarein 7-methyl ether 6-glucoside* : (a) 3D (b) 2D

Uji stabilitas kompleks ligan dengan reseptor dilakukan dengan *molecular dynamic* menggunakan program CHARMM-GUI dan GROMACS yang terdiri dari RMSD, RMSF, jari-jari girasi,

SASA dan ikatan hydrogen yang dapat dilihat pada gambar 6 a-f.





**Gambar 6.** (a) Hasil RMSD *Molecular Dynamic* Kompleks *Scutellarein 7-methyl ether 6-glucoside* dengan reseptor 4I5I, selama 20ns; (b) Hasil RMSF *Molecular Dynamic* Kompleks *Scutellarein 7-methyl ether 6- glucoside* dengan reseptor 4I5I, selama 20 ns; (c) Hasil Jari Jari Girasi *Molecular Dynamic* Kompleks *Scutellarein 7-methyl ether 6- glucoside* dengan reseptor 4I5I, selama 20ns; (d) Hasil SASA *Molecular Dynamic* Kompleks *Scutellarein 7-methyl ether 6- glucoside* dengan reseptor 4I5I, selama 20 ns; (e) Hasil Ikatan Hidrogen *Molecular Dynamic* Kompleks *Scutellarein 7-methyl ether 6- glucoside* dengan reseptor 4I5I, selama 20ns; (f) Profil Hasil RMSF Atom *Molecular Dynamic* Kompleks *Scutellarein 7-methyl ether 6- glucoside* dengan nomor residu.

## KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa metabolit sekunder terbaik putik bunga

saffron (*Crocus sativus* L) yaitu *Scutellarein 7-methyl ether 6-glucoside* ( $\Delta G = -11,53$  kkal/mol) terhadap senyawa pembanding doxorubicin ( $\Delta G = -9,46$

kkal/mol). Hasil interaksi ikatan ligan asli 4I5 dengan reseptor SIRT1 (Kode PDB: 4I5I) ikatan hydrogen pada asam amino ASP A:348; ILE A:347; ikatan hidrofobik pada asam amino PHE A:273; PHE A:297. Parameter dalam *molecular dynamic* untuk penilaian stabilitas terdiri dari RMSD, RMSF, jari-jari girasi, SASA dan ikatan hydrogen. Senyawa *Scutellarein 7-methyl ether 6-glucoside* selama simulasi menghasilkan grafik RMSD yang relatif stabil dengan selisih nilai RMSD pada kisaran 0,1 Å sedangkan senyawa pembanding doxorubicin mengalami sedikit fluktuasi dengan selisih nilai RMSD 0,17 Å. Senyawa *Scutellarein 7-methyl ether 6-glucoside* menunjukkan nilai jari-jari girasi yang relatif stabil tanpa adanya fluktuasi selama waktu simulasi berjalan hingga 20ns. Hasil yang diperoleh mengungkapkan bahwa kompleks tersebut dapat tetap stabil selama simulasi dan berinteraksi dengan baik terhadap reseptor SIRT1 (Kode PDB: 4I5I). *Scutellarein 7-methyl ether 6-glucoside* e relatif mempertahankan nilai SASA, hal ini dapat dilihat dari selisih rentang nilai SASA senyawa yang rendah yaitu pada kisaran 0,1 Å. Diharapkan pada penelitian lebih lanjut dilakukan uji *in vitro* dan *in vivo* terhadap senyawa *Scutellarein 7-methyl ether 6-glucoside* yang berpotensi

sebagai aktivator SIRT1

## DAFTAR PUSTAKA

- A. Zeka, J. R, *et al.* (2015) 'Inflammatory Markers and Particulate Air Pollution: Characterizing the Pathway to Disease,' International Journal of Epidemiology, Vol. 35, No. 5, 2006, pp. 1347-1354.
- Adamson, R. H. (2016) 'The Acute Lethal Dose 50 (LD 50) of Caffeine in Albino Rats' *Regulatory Toxicology and Pharmaceutical*, 80, pp. 274-276.
- American Cancer Society. Breast Cancer Facts & Figures 2019-2020. Atlanta: American Cancer Society, 2019
- Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan Republik Indonesia (2018) Hasil Utama Riskesdas 2018. Jakarta.
- Bolhassani A, Khavari A, Bathaie S. Saffron And Natural Carotenoids: Biochemical Activities And Anti-Tumor Effects. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)*. 2014; 1845(1)..
- Chikhale, H. and Nerkar, A. (2020) 'Review on *In Silico* Techniques an Approach to Drug Discovery', *Current Trends in*

- Pharmacy and Pharmaceutical Chemistry*, 2(1), pp. 24-32.
- D. Kesuma., Siswandono dan A. Kirtishanti (2022) ‘Molecular Docking And Biological Activity Of N- (4-Methoxy)-Benzoyl-N’-Phenylthiourea And N-(4- Trifluoro)-Benzoyl-N’-Phenylthiourea As Antibreast Cancer Candidates’ , *Rasayan J. Chem.*, 15(2), 1503-1508(2022) [http : // doi . org / 10.31788/RJC.2022.1526836](http://doi.org/10.31788/RJC.2022.1526836)
- D. Kesuma., Siswandono., Bambang., Marcellino (2020) ‘Synthesis and anticancer evaluation of N-benzoyl-N'-phenylthiourea derivatives against human breast cancer cells (T47D)’ , *Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences*, School of Pharmaceutical Sciences, Peking University. <http://www.jcps.ac.cn>
- Dai X, Hongye C, Zhonghu B, Jia L, Breast Cancer Cell Line Classification and Its Relevance with Breast Tumor Subtyping, *Journal of Cancer*, 2017, 8(16);3131-41, [https : // doi .org /10.7150 /jca .18457](https://doi.org/10.7150/jca.18457).
- El-Din, N. A. E. S. S. (2017) ‘Virtual Screening, Drug Likeness, Bioavailability and Docking Studies of Small Molecules of Heterocyclic Sulfonamide’, *Word Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6(3), pp. 1145-1160.
- Elhassan, G. O. and Alfarouk, K.O. (2015) ‘Drug Development: Stages of Drug Development’, *J Pharmacovigilance* , 3 (3).
- Global Cancer Observatory* (2022, 24 Oktober). *New Global Cancer Data*. Diakses pada 20 Desember 2022, dari <https://gco.iarc.fr/>.
- Gumez, A. *et al.* (2005) ‘Inhibitory Effect of 5-Fluorouracil on Cytochrome P450 2C9 Activity in Cancer Patients’, *Clinical Pharmacology & Toxicology*, 98, pp.197-200.
- Indra Saputra Liambo , Adryan Frisitionhady , Muhammad Hajrul Malaka (2022). *Pharmauho: Jurnal Farmasi, Sains, dan Kesehatan* “Review: Patofisiologi, Epidemiologi, dan Lini Sel Kanker Payudara”
- Jadouali, S.M, *et al* (2018) ‘Chemical characterization and antioxidant compounds of flower parts of Moroccan *crocus sativus* L. doi: [org/10.1016/j.jssas.2018.03.007](https://doi.org/10.1016/j.jssas.2018.03.007)
- Khorasanchi Z, dkk. Crocus sativus A Natural Food Coloring And Flavoring Has Potent Anti-Tumor Properties. *Phytomed.* 2018;43:21-27.

Mansoori, *et al.* (2017) 'The different mechanisms of cancer drug resistance: A brief review

National Cancer Institute (2016, 21 Desember). Why do Cancer Treatments stop working? Diakses pada 17 November 2022 pada <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/-research/drug-combo-resistance>

Pires, D. E. V., Blundell, T. L. and Ascher, D. B. (2015) 'pkCSM: Predicting Small- Molecule Pharmacokinetic and Toxicity Properties Using Graph-Based Signatures', *Journal of Medical Chemistry*, 58, pp. 4066-4072.

Sun, Y.S. Zhao, Z. Zhang-Nv, Y. Fang, X. Hang-Jing, L. Zhi-Yong, Z. Wen, S. Jianmin, J. Ping-Ping, Y. & Han-Ping, Z. (2017). Risk Factors and Preventions of Breast Cancer. *International Journal of Biological Sciences*, 13(11), 1387- 1397, <https://doi.org/10.7150/ijbs.21635>.

The *Global Cancer Observatory*. (2020). WHO Europe. <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/908-europe-fact-sheets.pdf>