

## STUDI PENAMBATAN MOLEKULER SENYAWA BIOAKTIF BIJI *HABBATUSSAUDA (Nigella sativa)* TERHADAP ER $\alpha$ SEBAGAI ALTERNATIF PENGOBATAN KANKER PAYUDARA DALAM UPAYA PEMBERIAN DATA ILMIAH *THIBBUN NABAWI*

Vega Mylanda<sup>1a</sup>, Norman Emil Ramadhan<sup>1</sup>, Rafiqah Nur Viviani<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia, Depok

<sup>a</sup>Email Korespondensi: vegamyland@gmail.com

### ABSTRAK

**Pendahuluan:** Reseptor Estrogen  $\alpha$  (ER $\alpha$ ) merupakan salah satu target reseptor utama dari pengobatan kanker payudara, sehingga penghambat ER $\alpha$  adalah salah satu obat yang paling potensial dalam pengobatan kanker payudara. Pencarian terhadap molekul penghambat ER $\alpha$  dapat ditemukan pada senyawa dari tanaman tradisional, seperti misalnya *habbatussauda (Nigella sativa)*. *Habbatussauda* telah dijelaskan pada *Thibbun Nabawi* sebagai tumbuhan yang dapat mengobati segala penyakit, namun masih belum ada penelitian yang menjelaskan senyawa dalam *habbatussauda* sebagai penghambat ER $\alpha$ . *Habbatussauda* diketahui memiliki beberapa kandungan senyawa yang memiliki aktivitas farmakologis, seperti antioksidan dan antikanker. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi dan interaksi dari senyawa yang terkandung dalam *habbatussauda* sebagai pengobatan baru kanker payudara dengan target ER $\alpha$ .

**Metode:** Penelitian ini menggunakan metode penambatan molekuler dengan peranti lunak AutoDock 4.2 dengan metode pencarian *Lamarckian Genetic Algorithm* (LGA). Penambatan molekuler dikenal ilmuwan sebagai metode yang cepat dan hemat biaya.

**Hasil:** Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa senyawa stigmasterol dalam *habbatussauda* berpotensi sebagai inhibitor ER $\alpha$  dengan nilai  $\Delta G$  sebesar -10,14 kkal/mol dan  $K_i$  sebesar 36,99 nM.

**Kesimpulan:** Penelitian ini menunjukkan bahwa stigmasterol merupakan kandidat potensial sebagai inhibitor ER $\alpha$  yang baru. Selain itu, penelitian ini mendapatkan beberapa residu asam amino yang diduga penting dalam aktivitas penghambatan ER $\alpha$ , yaitu Leu346, Glu353, Leu387, dan Arg394, serta memberikan bukti ilmiah bahwa senyawa kimia dalam *Nigella sativa* memiliki potensi sebagai obat kanker payudara.

**Kata kunci:** *habbatussauda*, *Nigella sativa*, ER $\alpha$ , penambatan molekuler, *stigmasterol*, *thibbun nabawi*

### Abstract

**Introduction:** Estrogen receptor (ER $\alpha$ ) is one of the main receptor targets of breast cancer treatment, so ER $\alpha$  inhibitors are one of the most potential drugs in the treatment of breast cancer. Searches for ER $\alpha$  inhibitory molecules can be found in compounds from traditional plants, such as Black Seed (*Nigella sativa*). Black Seed has been described by *Thibbun Nabawi* as a plant that can treat all diseases, but there is still no research that explains the compounds in Black Seed as an ER $\alpha$  inhibitor. Black Seed is known to contain several

compounds that have pharmacological activities, such as antioxidants and anticancer. This study aims to determine the potential and interactions of natural compounds in Black Seed as a new treatment for breast cancer with ER $\alpha$  targets.

**Methods:** This research uses molecular docking method with AutoDock 4.2 software with Lamarckian Genetic Algorithm (LGA) search method. Molecular docking is known as a fast and cost-effective research method.

**Results:** The results of this study shows that the stigmasterol compound in Black Seed has the potential as an ER $\alpha$  inhibitor with an  $\Delta G$  value of -10.14 kcal/mol and Ki 36.99 nM.

**Conclusions:** This study shows that stigmasterol is a potential candidate as a new ER $\alpha$  inhibitor. In addition, this study obtained several amino acid residues that were thought to be important in ER $\alpha$  inhibitory activity, Leu346, Glu353, Leu387, and Arg394, as well as providing scientific evidence that the chemical compounds in *Nigella sativa* have potential as breast cancer drugs.

**Keywords:** *habbatussauda*, *Nigella sativa*, ER $\alpha$ , molecular docking, stigmasterol, *thibbun nabawi*

## PENDAHULUAN

Prevalensi tumor atau kanker di Indonesia mengalami peningkatan sebesar 0.39% dari tahun 2013-2018. Saat ini, kejadian penyakit kanker di Indonesia menempati urutan ke-8 di Asia Tenggara dan ke-23 di Asia. Kanker yang paling banyak diderita adalah kanker payudara yaitu sebesar 42.1 per 100.000 penduduk dengan rata-rata kematian 17 per 100.000 penduduk<sup>[1]</sup>.

Sekitar 70% dari penderita kanker payudara telah terdeteksi ER $\alpha$ -positif (*estrogen receptor  $\alpha$* ), menjadikan inhibitor ER $\alpha$  merupakan salah satu fokus pengobatan kanker payudara. ER $\alpha$  merupakan subtype ER utama dalam epitel mamal dan memainkan peran penting dalam biologis kelenjar mammae, serta dalam pengembangan dan pengobatan kanker payudara<sup>[2]</sup>. Pengobatan kanker payudara biasanya dilakukan dengan *selective estrogen receptor modulators* (SERMs), seperti tamoksifen yang sudah digunakan sejak 30 tahun yang lalu<sup>[2],[3]</sup>.

Di Indonesia, sebesar 31.4% memilih untuk mengobati penyakitnya melalui pengobatan tradisional<sup>[4]</sup>. Alasan pasien kanker payudara memilih pengobatan tradisional diantaranya karena lebih merasakan adanya manfaat setelah menjalani pengobatan tradisional dibanding pengobatan medis kanker, lebih memercayai terapis pengobatan tradisional, dan pengobatan tradisional dianggap mempercepat proses penyembuhan<sup>[5]</sup>. Selain itu, kondisi masyarakat Indonesia yang mayoritas beragama Islam, cenderung untuk menjalankan syariat Islam dalam kehidupan sehari-hari. Menurut Syekh Abdul Aziz, dalam beberapa hadis dianjurkan agar umat Islam menggunakan obat-obatan syar'i untuk mengatasi penyakit tertentu, seperti *habbatussauda* (*Nigella sativa*)<sup>[6]</sup>. Sistem pengobatan syar'i yang diadopsi dari Rasulullah *shallallahu 'alaihi wa sallam* ini dikenal dengan *thibbun nabawi*<sup>[7]</sup>. Beberapa studi telah



menunjukkan bahwa biji *Habbatussauda* diketahui mengandung senyawa yang memiliki efek antiinflamasi, antioksidan, antihelmintik, antikanker dan antimikroba<sup>[8],[9],[10]</sup>. Beberapa senyawa kimia dalam *Habbatussauda* yang telah diketahui memiliki aktivitas farmakologis diantaranya yaitu *D-Glucose*, *6-O-a D galactopyranosil*; *Terpinen-4-ol*; *a-D-Glucopyranoside*, *O-a-D-glucopyranosil-b-D-fructose*; *Thymoquinone*; *Longifolene*; *2-(4-Nitrobutyryl)cyclooctanone*; *Phenol*, *4-methoxy-2,3,6-trimethyl*; dan *Stigmasterol*<sup>[10]</sup>. Namun, belum ada penelitian yang menjelaskan potensi senyawa *Habbatussauda* sebagai inhibitor ER $\alpha$ .

Oleh sebab itu, peneliti ingin memberikan bukti ilmiah bahwa *habbatussauda* dapat berpotensi sebagai alternatif pengobatan kanker payudara melalui penghambatan ER $\alpha$  menggunakan metode *in silico* penambatan molekuler 8 senyawa *Habbatussauda* yang memiliki aktivitas antikanker dan torsi di bawah 32. Metode *in silico* penambatan molekuler dipilih karena dapat menggambarkan interaksi senyawa kandidat obat dengan target reseptor, hemat waktu, serta hemat biaya.

## METODE PENELITIAN

### Preparasi Makromolekul

Struktur tiga dimensi makromolekul *Estrogen Receptor  $\alpha$*  (ER $\alpha$ ) yang berikatan dengan ligan 4-Hidroksitamoxifen diunduh dari RCSB (PDB ID: 3ERT) dalam format

\*.pdb. Makromolekul dihapus molekul air dan residu yang tidak pentingnya, dipisahkan dari ligan kokristal, dan keduanya disimpan dalam format \*.pdb dengan ditambahkan atom hidrogen pada bagian polarnya menggunakan peranti lunak AutoDockTools 1.5.6.

### Preparasi Ligan Uji

Struktur ligan yang digunakan adalah 8 ligan uji yang memiliki aktivitas antikanker dan torsi di bawah 32, yaitu (1) *D-Glucose*, *6-O-a D galactopyranosil*; (2) *Terpinen-4-ol*; (3) *a-D-Glucopyranoside*, *O-a-D-glucopyranosil-b-D-fructose*; (4) *Thymoquinone*; (5) *Longifolene*; (6) *2-(4-Nitrobutyryl)cyclooctanone*; (7) *Phenol*, *4-methoxy-2,3,6-trimethyl*; dan (8) *Stigmasterol*(10). Selanjutnya ligan uji digambar menggunakan MarvinSketch, dioptimasi dengan Clean 3D disimpan dalam format \*.pdb, lalu diubah ditambahkan atom hidrogen dan dioptimasi di AutoDockTools 1.5.6. dan disimpan dalam format \*.pdbqt.

### Validasi Metode Penambatan Molekuler

Validasi dilakukan dengan metode *redocking*. Metode ini dilakukan dengan menambatkan kembali ligan kokristal lalu dihitung *Root Mean Square Deviation* (RMSD)-nya. RMSD menunjukkan perbedaan konformasi dari ligan kokristal *native* dengan ligan hasil gambar. Parameter yang diinginkan adalah RMSD < 2 Å. Selain itu, hasil persebaran data juga menggambarkan hasil validasi metode.



### Penambatan Molekuler

Penambatan molekuler dilakukan dengan menyesuaikan *grid box* dengan koordinat berada di tengah ligan kokristal. Selanjutnya melakukan penambatan dengan menambatkan ligan yang telah digambar kepada makromolekul ER $\alpha$ . Parameter yang diamati berupa *free binding energy*/energi Gibbs ( $\Delta G$ ) dan konstanta inhibisi ( $K_i$ ) dari ligan-ligan tersebut.

### Analisis dan Visualisasi Penambatan Molekuler

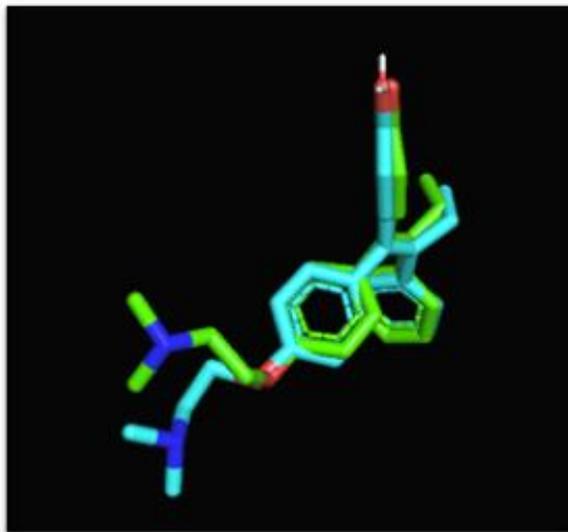
Hasil penambatan molekuler 8 ligan uji dengan makromolekul ER $\alpha$  dianalisis *binding energy* dan konstanta inhibisinya

lalu diambil 3 ligan yang menunjukkan hasil terbaik. Selanjutnya divisualisasi dengan PyMOL dan LigPlot+ untuk melihat interaksi antara ligan-residu asam amino.

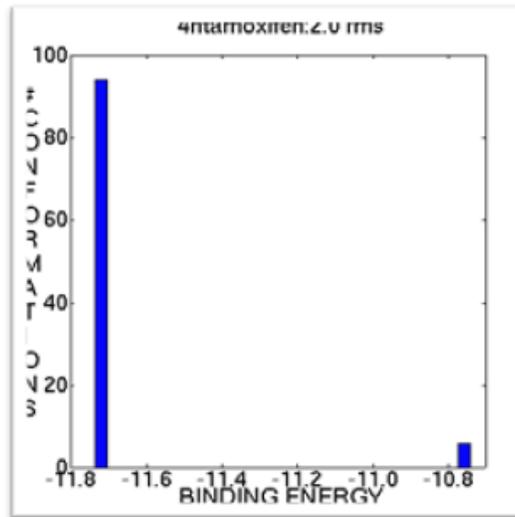
### HASIL PENELITIAN

#### Validasi Metode Penambatan Molekuler

Validasi metode penambatan molekuler dilakukan dengan melakukan *redocking* kokristal dari makromolekul ER $\alpha$  (PDB ID: 3ERT) yaitu hidroksitamoksifen (OHT) ke makromolekulnya. Superposisi kokristal OHT dan hasil penambatan dapat dilihat pada Gambar 1. Selain itu, dilakukan pula *clustering* dari metode validasi yang dilakukan, dapat dilihat pada Gambar 2.



**Gambar 1.** Superposisi Kokristal OHT (Warna Biru) dan Hasil Penambatan (Warna Hijau)



**Gambar 2.** Hasil *Clustering* dari Metode Validasi yang Digunakan

**Penambatan Molekuler**

Penambatan dilakukan pada delapan ligan dalam *Habbatussauda* yang memiliki aktivitas antikanker dan torsi di bawah 32, yaitu (1) *D-Glucose, 6-O-a D galactopyranosil*; (2) *Terpinen-4-ol*; (3) *a-D-Glucopyranoside, O-a-D-glucoyranosil-b-D-fructose*; (4) *Thymoquinone*; (5)

*Longifolene*; (6) *2-(4-Nitrobutyryl)cyclooctanone*; (7) *Phenol, 4-methoxy-2,3,6-trimethyl*; dan (8) *Stigmasterol* yang telah dioptimasi menggunakan aplikasi *MarvinSketch*. Penambatan dilakukan sesuai dengan metode validasi. Hasil yang diperoleh dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Hasil Penambatan Molekuler Senyawa *Habbatussauda* Potensial Antikanker Terhadap ER $\alpha$

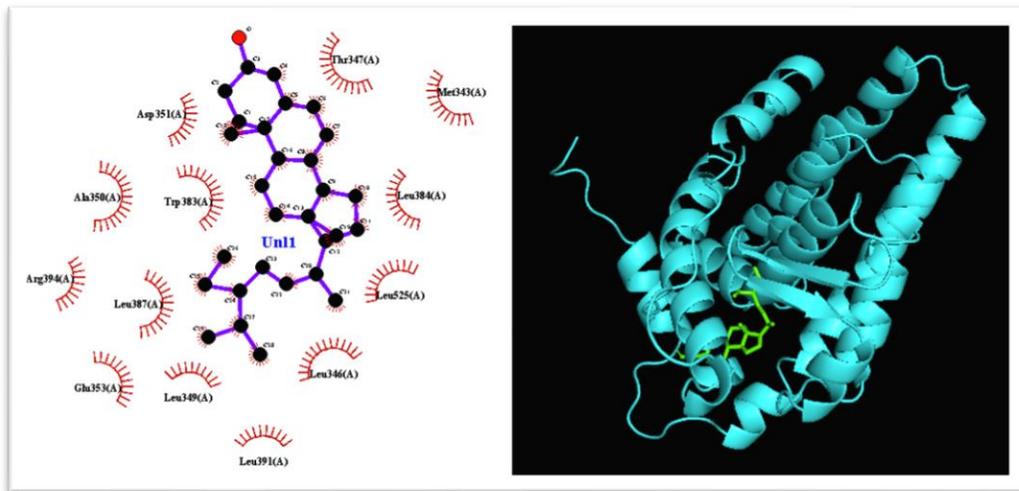
Ligan No.	$\Delta G$ (kkal/mol)	ki
1	-3,74	1,82 mM
2	-5,44	103,51 uM
3	-3,71	1,92 mM
4	-5,28	135,74 uM
5	-7,9	1,62 uM
6	-6,82	10,02 uM
7	-5,15	168,83 uM

8	-10,14	36,99 nM
OHT	-11,72	2,57 nM

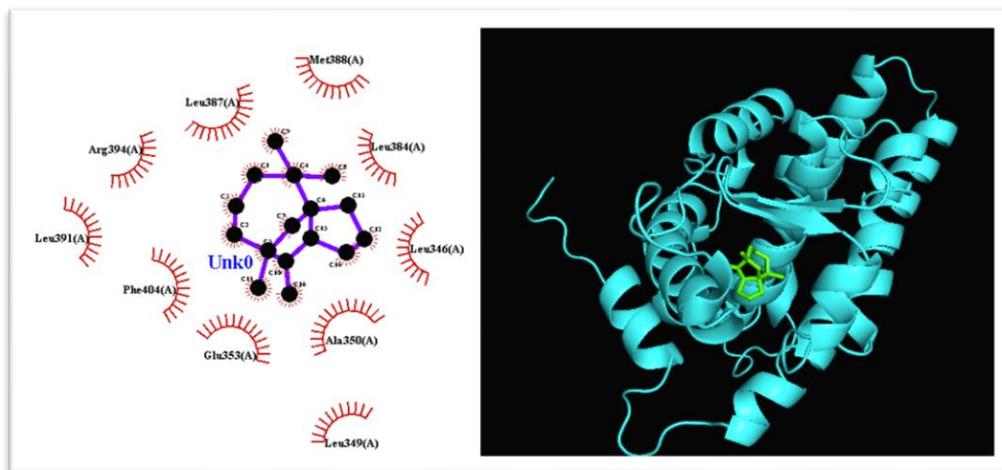
### Analisis dan Visualisasi Data

Visualisasi dilakukan dengan menggunakan dua program, yaitu *PyMOL* dan *LigPlot+*. Program *PyMOL* membantu visualisasi secara tiga dimensi, sedangkan program *LigPlot+* membantu visualisasi secara dua dimensi. Berikut adalah hasil

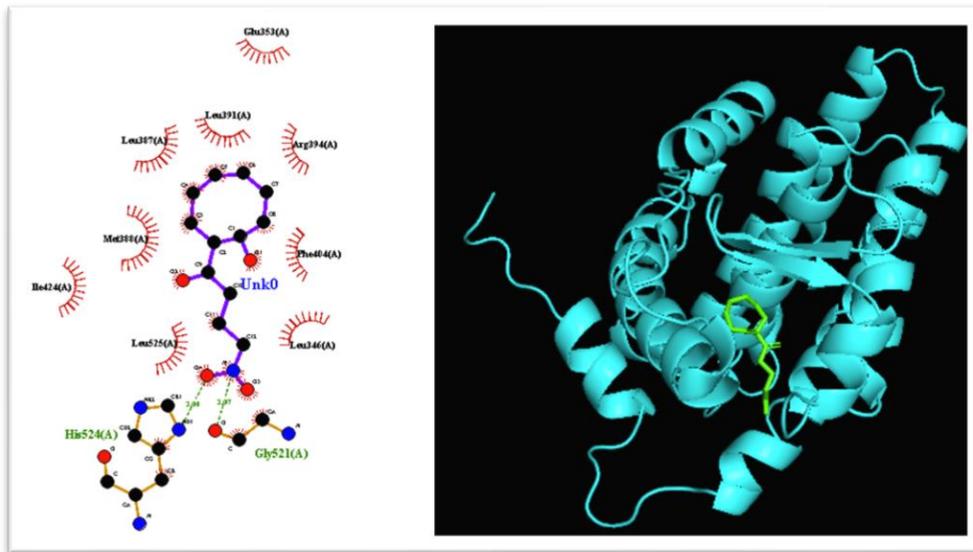
visualisasi dari ketiga senyawa dengan hasil terbaik yang tertera pada Gambar 3. Dari hasil visualisasi tersebut, dapat diketahui beberapa persamaan interaksi antara ligan dengan asam amino target. Interaksi asam amino ER $\alpha$  dengan ligan uji dapat dilihat pada Tabel 2.



(a)



(b)



(c)

**Gambar 3.** Hasil Visualisasi 2D dan 3D Tiga Senyawa dengan 3ERT. (a) Hasil visualisasi 2D dan 3D *stigmasterol* dengan 3ERT; (b) *Longifen* dengan 3ERT; (c) 2-(4-*Nitrobutyryl*)*cyclooctanone* dengan 3ERT.

**Tabel 2.** Interaksi Asam Amino ER $\alpha$  dengan Ligan Uji

	OHT	8	5	6
Met343	v	v		
Leu346	v	v	v	v
Thr347	v	v		
Leu349		v		
Ala350	v	v	v	
Asp351	v	v		
Glu353	v	v	v	v
Trp383	v	v		
Leu384	v	v	v	
Leu387	v	v	v	v
Met388	v		v	v
Leu391		v	v	v
Arg394	v	v	v	v
Phe404			v	v
Glu419	v			

Met421	v		
Ile424	v		v
Leu428	v		
Gly521	v		v
His524			v
Leu525	v	v	v

\* Warna hijau menunjukkan ikatan hidrogen

## PEMBAHASAN

Kanker payudara merupakan keganasan pada jaringan payudara yang dapat berasal dari epitel duktus maupun lobulusnya<sup>[1],[11]</sup>. Produksi ovarium dari hormon steroid seks, estrogen, memengaruhi pertumbuhan diferensiasi dan fungsi kelenjar mammae. Estrogen memediasi efeknya melalui pengikatan dengan reseptor estrogen (ER), ER $\alpha$  dan ER $\beta$ . ER $\alpha$  merupakan subtype reseptor pertama yang diidentifikasi dalam payudara, maka sebagian besar penelitian berfokus pada peran biologis ER $\alpha$  dalam kelenjar mammae. Pada kanker payudara, gangguan pada ER $\alpha$  (*estrogen receptor  $\alpha$* ) merupakan strategi terapi yang efektif<sup>[12]</sup>.

*Selective estrogen receptor modulators* (SERMs) saat ini digunakan sebagai pengobatan untuk kanker payudara, osteoporosis, dan gejala pascamenopause, karena obat ini memiliki fitur yang bertindak sebagai agonis dan antagonis estrogen tergantung pada jaringan target<sup>[13]</sup>.

*Nigella sativa* (Jintan hitam) atau populer dengan nama *Habbatussauda* memiliki beberapa aktivitas, diantaranya sebagai

antitusif, memperkecil batu ginjal, memperlambat proses karsinogenik, mengobati diare dan polio<sup>[14]</sup>, sebagai antiinflamasi dan antioksidan<sup>[8],[9]</sup>. Selain itu, minyak esensial *Habbatussauda* terbukti memiliki efek antihelmintik, antimikroba, antivirus, dan antikanker<sup>[15]</sup>.

Ligan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah beberapa senyawa bioaktif *Habbatussauda* yang telah diteliti memiliki aktivitas anti kanker dan torsi di bawah 32, yaitu (1) *D-Glucose, 6-O-a D galactopyranosil*; (2) *Terpinen-4-ol*; (3) *a-D-Glucopyranoside, O-a-D-glucopyranosil-b-D-fructose*; (4) *Thymoquinone*; (5) *Longifolene*; (6) *2-(4-Nitrobutyryl)cyclooctanone*; (7) *Phenol, 4-methoxy-2,3,6-trimethyl*; dan (8) *Stigmasterol*<sup>[10]</sup>.

Validasi metode penambatan molekuler dilakukan dengan cara melakukan *repenambatan* kokristal dari makromolekul ER $\alpha$  (PDB ID: 3ERT) yaitu hidroksitamoksifen (OHT) ke makromolekulnya. Validasi dilakukan dengan AutoDockTools 1.5.6. Parameter *grid box* yang dipakai sebesar 40x40x40 dengan jarak 0.375 Å di koordinat x =



30.010,  $y = -1.913$ , dan  $z = 24.207$ ). Parameter yang *penambatan* yang divalidasi berdasarkan *Lamarckian Genetic Algorithm* (LGA) dengan *number of runs* = 100, *population size* = 150, dan *number of GA* = 2.500.000<sup>[16]</sup>. Hasil yang didapatkan berupa nilai RMSD senilai 0,971048 Å. Angka ini membuktikan bahwa hasil validasi cukup baik karena berada di bawah nilai 2 Å<sup>[17]</sup>. Dengan demikian, parameter yang digunakan terbukti valid untuk dilakukan. Selain nilai RMSD, persebaran data dari sampel juga menggambarkan kualitas dari metode tersebut. Hasil *clustering* atau persebaran data yang baik adalah hasil *clustering* yang tidak memiliki persebaran data terlalu jauh. Hasil *clustering* dari metode validasi yang dilakukan dapat dilihat pada Gambar 2.

Potensi inhibisi dari suatu ligan terhadap protein atau makromolekul dapat dilihat dari nilai  $\Delta G$ -nya. Nilai  $\Delta G$  menggambarkan energi ikatan bebas antara ligan tersebut dengan makromolekul. Maka dari itu, makin kecil nilai dari  $\Delta G$  suatu ligan maka makin mudah ligan tersebut menempati sisi aktif dari enzim sehingga dapat menginhibisi aktivitas enzim tersebut. Nilai konstanta inhibisi ( $k_i$ ) adalah konsentrasi ligan tersebut dalam molar yang dapat menimbulkan setengah poten aktivitas inhibisi. Dari Tabel.1 dapat dilihat tiga urutan teratas senyawa bioaktif dari *Habbatussauda* yang memiliki potensi

aktivitas inhibisi estrogen  $\alpha$  adalah (8) *Stigmasterol*; (5) *Longifolene*; dan (6) 2-(4-*Nitrobutyryl*)*cyclooctanone*. Maka dari itu, ketiga senyawa tersebut dianalisis lebih lanjut untuk divisualisasikan dan dianalisis.

Visualisasi dilakukan untuk mengetahui residu asam amino yang berikatan secara hidrofobik dan/atau hidrofilik dengan ligan. Interaksi antara ligan dan protein berguna untuk mengetahui aktivitas ligan terhadap protein tersebut. Visualisasi dilakukan dengan menggunakan dua program, *PyMOL* dan *LigPlot+*. Program *PyMOL* membantu visualisasi secara tiga dimensi sedangkan program *LigPlot+* membantu visualisasi secara dua dimensi. Hasil visualisasi dapat dilihat pada Gambar 3.

Dari data-data tersebut, dapat diketahui bahwa ada beberapa asam amino yang diduga penting dalam proses inhibisi ER $\alpha$ . Asam amino tersebut adalah Leu346, Glu353, Leu387, dan Arg394. Keempat asam amino tersebut menunjukkan ikatan dengan keempat ligan yang diujikan (Gambar 3). Hal ini berguna bagi penelitian di masa mendatang untuk mengetahui asam amino mana saja yang berperan dalam inhibisi ER $\alpha$ . Selain itu, jumlah ikatan hidrogen pada OHT lebih banyak dibandingkan dengan ligan lain. Hal ini juga menjadi referensi untuk mengetahui hubungan ikatan hidrogen dengan kemampuan inhibisi ER $\alpha$ . Peningkatan afinitas antara ligan dengan protein dapat dilakukan dengan modifikasi struktur.



Dari penelitian ini dapat diketahui bahwa semakin banyak interaksi antara ligan dengan asam amino makromolekul maka akan semakin baik hasil  $\Delta G$  yang diperoleh. Berdasarkan hasil penelitian ini, beberapa senyawa kimia dalam *Nigella sativa* telah terbukti secara ilmiah melalui uji *in silico* berpotensi menghambat ER $\alpha$ . Hal ini sekaligus mendukung sabda Rasulullah *shallallahu 'alaihi wa sallam*, "Sesungguhnya pada *habbatussaуда* terdapat obat untuk segala macam penyakit, kecuali kematian" HR. Bukhari No. 5687; HR. Muslim No. 2215(7), dan menguatkan keabsahan sistem pengobatan *thibbun nabawi* yang diajarkan oleh Rasulullah *shallallahu 'alaihi wa sallam*. Penelitian ini menambah bukti ilmiah mengenai manfaat *habbatussaуда* sebagai obat untuk segala macam penyakit dengan membuktikan bahwa *Habbatussaуда* berpotensi sebagai obat kanker payudara.

### KESIMPULAN

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ilmiah ini adalah *Habbatussaуда* memiliki beberapa senyawa yang berpotensi menghambat ER $\alpha$  secara *in silico*, yaitu *Stigmasterol*, *Longifolen*, dan *2-(4-Nitrobutyryl)cyclooctanone*, dimana *Stigmasterol* memiliki nilai  $\Delta G$  dan  $k_i$  sebesar, yaitu -10,14 kcal/mol dan 36,99 nM, mendekati nilai  $\Delta G$  dan  $k_i$  4-

Hidroksitamoksifen yaitu dan -11,72 kcal/mol dan 2,57 Nm. *Stigmasterol* memiliki interaksi hidrofobik dan ikatan hidrogen dengan beberapa asam amino yang diduga penting dalam penghambatan ER $\alpha$ , yaitu Leu346, Glu353, Leu387, dan Arg394.

### DAFTAR PUSTAKA

1. Departemen Kesehatan. Hari Kanker Sedunia 2019. Available from: <https://www.depkes.go.id/pdf.php?id=19020100003>.
2. Bouris, P., Skandalis, S., Piperigkou, Z., Afratis, N., Karamanou, K., Aletras, A., Moustakas, A., Theocharis, A. and Karamanos, N. Estrogen receptor alpha mediates epithelial to mesenchymal transition, expression of specific matrix effectors and functional properties of breast cancer cells. 2015. *Matrix Biology*, 43:42-60, 10.1016/j.matbio. 2015.02.008.
3. Swaby R, Sharma C, Jordan V. SERMs for the treatment and prevention of breast cancer. 2007. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*.; 8(3):229-239, 10.1007/s11154-007-9034-4.
4. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.



5. Laporan Nasional Riset Dasar Kesehatan (Risikesdas) 2018. Jakarta: Lembaga Penerbit Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
6. Shabrina A, Iskandarsyah A. Pengambilan Keputusan mengenai Pengobatan pada Pasien Kanker Payudara yang Menjalani Pengobatan Tradisional. 2019. *Jurnal Psikologi* 46(1):72,10.22146/jpsi.31902.
7. Rusian, H. Adab Berobat dalam Islam. 2016. Available from:<https://www.republika.co.id/berita/duniaislam/mozaik/16/10/01/oecywj313-adab-berobat-dalam-islam>.
8. Bahraen, R. Pengobatan yang Menisbatkan pada Islam dan Sunnah. 2019. Available from:<https://muslim.or.id/52358-pengobatan-yang-menisbatkan-pada-islam-sunnah.html>
9. Mansour M, Nagi M, El-Khatib A, Al-Bekairi A. Effects of thymoquinone on antioxidant enzyme activities, lipid peroxidation and DT-diaphorase in different tissues of mice: a possible mechanism of action. 2002. *Cell Biochemistry and Function* 20(2):143-151, 10.1002/cbf.968.
10. Altameme HJ, Hameed IH, Kareem MA. Analysis of alkaloid phytochemical compounds in the ethanolic extract of *Datura stramonium* and evaluation of antimicrobial activity *Afr. J. Biotechnol* 14(19):1668-1674, 10.5897/AJB2015.14536.
11. Mohammed Y, Ghaidaa J, Imad H. Analysis of bioactive chemical compounds of *Nigella sativa* using gas chromatography-mass spectrometry. 2016. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*; 8(2):8-24, 10.5897/JPP2015.0364
12. Kementerian Kesehatan RI. Panduan Penatalaksanaan Kanker Payudara. n.d, 2018. Available from:<http://kanker.kemkes.go.id/guidelines/PPKPayudara.pdf>
13. Gross J, Yee D. How does the estrogen receptor work?. 2002 *Breast Cancer Research*; 4(2), 10.1186/bcr424
14. An K. Selective Estrogen Receptor Modulators. 2016. *Asian Spine J*, 10(4): 787-791, 10.4184/asj.2016.10.4.787.
15. Enomoto S, Asano R, Iwahori Y, Narui T, Okada Y, Singab A, et al. Hematological Studies on Black Cumin Oil from the Seeds of *Nigella sativa* L. 2001. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*; 24(3):307-310, 10.1248/bpb.24.307
16. Aboul Ela MA, el-Shaer NS, Ghanem NB. Antimicrobial evaluation and chromatographic analysis of some essential and fixed oils. 1996. *Pharmazie*; 51(12):993-4.

17. Muchtaridi M, Dermawan D, Yusuf M. Molecular Docking, 3D Structure-Based Pharmacophore Modeling, and ADME Prediction of Alpha Mangostin and Its Derivatives against Estrogen Receptor Alpha. 2018. Journal of Young Pharmacists; 10(3):252-259, 10.5530/jyp.2018.10.58.
18. Bissantz C, Folkers G, Rognan D. Protein-Based Virtual Screening of Chemical Databases. Evaluation of Different Docking/Scoring Combinations. 2000. Journal of Medicinal Chemistry; 43(25):4759-4767, 10.1021/jm001044l

