

**IDENTIFIKASI SENYAWA AKTIF DAN PREDIKSI MOLEKULER
SENYAWA ANTIKANKER PAYUDARA PADA SPONS
Stylissa massa (Carter, 1887)**

(Skripsi)

Oleh

CAROLINE LYDIA AULIA

NPM 1814221034



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2023**

ABSTRACT

ACTIVE COMPOUND IDENTIFICATION AND MOLECULAR PREDICTION OF ANTI-BREAST CANCER ACTIVITY EXTRACTED FROM MARINE SPONGE *Stylissa massa* (Carter, 1887)

By

CAROLINE LYDIA AULIA

A great source of biodiversity, sponges play an important role in marine pharmacology, a scientific field combining blue biotechnology and natural products pharmacology. *Stylissa massa* sponge species consist of usable bioactives, one of which is an anticancer agent. Breast cancer is the second leading cause of mortality in Indonesia. *Stylissa massa* compounds from the Pahawang Island waters, Lampung, Indonesia were investigated. This study aimed to identify active compounds from *S. massa* which had anti-cancer activity potential in breast cancer. LC-HRMS analysis and molecular docking were used as the research method of investigation. The results showed that compared to the docked hymenamide C with the breast cancer target proteins GRB2 and OXTR, the docked flufenamic acid had a better binding affinity value with the breast cancer target proteins CSF1R, PLK4, MKNK2 and ABL1. The flufenamic acid also showed better RMSD with the native ligand of each target protein, with RMSD close to 0Å. In brief, there were out of at least 12 anticancer compounds from *S. massa*, 2 of them had potential as anti-breast cancer agents (flufenamic acid and hymenamide C). These compounds may had molecular mechanisms as inhibitors of breast cancer target proteins.

Keywords: *Stylissa massa*, breast cancer, molecular docking, LC-HRMS, in silico.

ABSTRAK

IDENTIFIKASI SENYAWA AKTIF DAN PREDIKSI MOLEKULER SENYAWA ANTIKANKER PAYUDARA PADA SPONS *Stylissa massa* (Carter, 1887)

Oleh

CAROLINE LYDIA AULIA

Spons mewakili sumber keanekaragaman hayati yang besar, memainkan peran penting dalam farmakologi kelautan. yaitu bidang studi yang memadukan bioteknologi biru dan farmakologi senyawa alami. Spesies spons *Stylissa massa* diketahui memiliki bioaktif yang dapat dimanfaatkan, salah satunya ialah sebagai senyawa antikanker. Kanker payudara termasuk urutan kedua penyebab kematian terbanyak di Indonesia. Telah dilakukan penelitian senyawa spons *S. massa* yang diperoleh dari perairan Pulau Pahawang, Lampung, Indonesia. Tujuan dari penelitian adalah mengidentifikasi senyawa aktif *S. massa* yang berperan sebagai antikanker payudara. Metode penelitian yang digunakan adalah analisis LC-HRMS dan *molecular docking*. Hasil dari penelitian menunjukkan nilai *binding affinity* yang baik dari *docking* senyawa asam flufenamat dengan protein target kanker payudara CSF1R, PLK4, MKNK2, dan ABL1 dibandingkan dengan senyawa hymenamide C dengan protein target kanker payudara GRB2 dan OXTR. Nilai RMSD yang baik juga ditunjukkan oleh senyawa asam flufenamat dengan ligan asli masing-masing protein target di mana nilai RMSD mendekati 0Å. Hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa terdapat 2 senyawa aktif *S. massa* yang berpotensi sebagai antikanker payudara (asam flufenamat dan hymenamide C) dari setidaknya 12 senyawa antikanker. Senyawa tersebut diprediksi memiliki mekanisme molekuler sebagai inhibitor pada protein target kanker payudara.

Kata kunci: *Stylissa massa*, kanker payudara, *molecular docking*, LC-HRMS, *in silico*.

**IDENTIFIKASI SENYAWA AKTIF DAN PREDIKSI MOLEKULER
SENYAWA ANTIKANKER PAYUDARA PADA SPONS
Stylissa massa (Carter, 1887)**

Oleh

CAROLINE LYDIA AULIA

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar
SARJANA SAINS**

Pada

**Jurusan Perikanan dan Kelautan
Fakultas Pertanian Universitas Lampung**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2023**

HALAMAN PENGESAHAN

Judul Skripsi : IDENTIFIKASI SENYAWA AKTIF DAN
PREDIKSI MOLEKULER SENYAWA
ANTIKANKER PAYUDARA PADA
SPONS *Stylissa massa* (Carter, 1887)

Nama Mahasiswa : *Caroline Lydia Aulia*

Nomor Pokok Mahasiswa : 1814221034

Program Studi : Ilmu Kelautan

Jurusan : Perikanan dan Kelautan

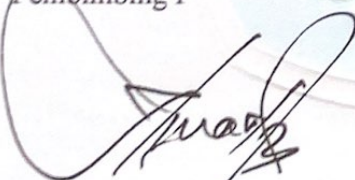
Fakultas : Pertanian

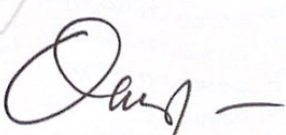
MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

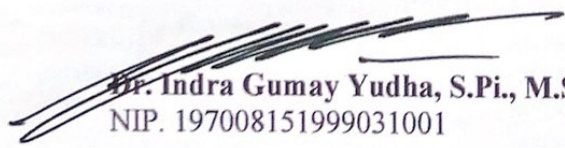
Pembimbing I

Pembimbing II


Dr. Moh. Muhaemin, S.Pi., M.Si.
NIP. 197412122000031002


Oktora Susanti, S.Pi., M.Si.
NIP. 198810012019032014

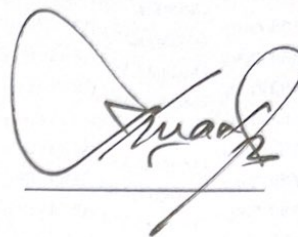
2. Ketua Jurusan Perikanan
dan Kelautan


Dr. Indra Gumay Yudha, S.Pi., M.Si.
NIP. 197008151999031001

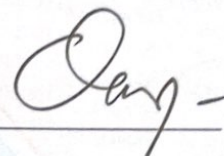
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

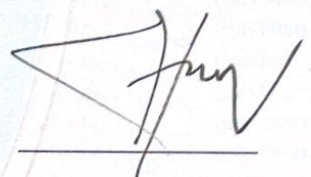
Ketua : **Dr. Moh. Muhaemin, S.Pi., M.Si.**



Sekretaris : **Oktora Susanti, S.Pi., M.Si**



Anggota : **Dr. Henky Mayaguezz, S.Pi., M.T.**



2. Dekan Fakultas Pertanian



Dr. Irwan Sukri Banuwa, M.Si.

196110201986031002

Tanggal lulus ujian skripsi: 14 Juni 2023

PERNYATAAN KEASLIAN HASIL KARYA

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Caroline Lydia Aulia

NPM : 1814221034

Judul Skripsi : Identifikasi Senyawa Aktif dan Prediksi Molekuler Senyawa Antikanker Payudara pada Spons *Stylissa Massa* (Carter, 1887)

Menyatakan bahwa skripsi yang saya tulis ini adalah murni hasil karya saya sendiri berdasarkan pengetahuan dan data yang saya dapatkan. Karya ini belum pernah dipublikasikan sebelumnya dan bukan plagiat dari karya orang lain. Demikian pernyataan ini saya buat, apabila di kemudian hari terbukti terdapat kecurangan dalam karya ini, maka saya siap mempertanggungjawabkannya.

Bandar Lampung, 14 Juni 2023



Caroline Lydia Aulia

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Kota Bekasi Provinsi Jawa Barat, pada tanggal 12 Agustus 2001 sebagai anak ke-3 dari Bapak Togar Simamora dan Ibu Martha Uly Nadeak. Penulis menempuh pendidikan formal dari Taman kanak-kanak Mutiara Ibu Kota Bekasi (2005 – 2006), lalu melanjutkan sekolah dasar di SDN Pengasinan 8 (2006 – 2012), dilanjutkan ke sekolah menengah pertama SMPN 12 Kota Bekasi (2012 – 2015), dan pendidikan sekolah menengah atas di SMKN 3 Kota Bekasi, jurusan tata boga (2015 – 2018). Penulis kemudian melanjutkan pendidikan ke jenjang perguruan tinggi di Program Studi Ilmu Kelautan, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung pada tahun 2018.

Penulis pernah aktif pada organisasi Pomperta (Persekutuan Oikumene Mahasiswa Kristen Pertanian Universitas Lampung) sebagai anggota panitia pada kegiatan penerimaan mahasiswa baru kristen pertanian pada tahun 2019. Penulis telah melaksanakan praktik umum di Pusat Budidaya dan Konservasi Laut (PBKL), Dinas Ketahanan Pangan, Kelautan dan Pertanian (DKPKP), yang berlokasi di Pulau Tidung, Kepulauan Seribu, DKI Jakarta. Penulis telah mengikuti sertifikasi penyelam SCUBA kelas A1 di bawah lembaga POSSI (Persatuan Olahraga Selam Seluruh Indonesia) pada tahun 2021.

MOTTO HIDUP

“Everything Happens for A Reason”

*"... Whosoever believeth on Him shall not be ashamed."
(Romans 10:11)*

SANWACANA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah Bapa, Putra, dan Roh Kudus yang senantiasa menyertai penulis, atas terselesaikannya skripsi yang berjudul “**Identifikasi Senyawa Aktif dan Prediksi Molekuler Senyawa Antikanker Payudara pada Spons *Stylissa Massa* (Carter, 1887)**”. Skripsi disusun dalam rangka memenuhi salah satu persyaratan untuk mencapai gelar sarjana (S1) pada Program Studi Ilmu Kelautan, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian Universitas Lampung. Dalam pelaksanaan penelitian dan penyusunan skripsi, penulis tidak akan berhasil tanpa adanya bantuan dan dukungan pihak lain.

Dengan demikian penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si. selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Lampung,
2. Dr. Indra Gumay Yudha, S.Pi., M.Si. selaku Ketua Jurusan Perikanan dan Kelautan,
3. Dr. Henky Mayaguezz, S.Pi., M.T. selaku Ketua Program Studi Ilmu Kelautan dan Dosen Penguji,
4. Dr. Moh. Muhaemin, S.Pi., M.Si. selaku Dosen Pembimbing I,
5. Oktora Susanti, S.Pi., M.Si. selaku Dosen Pembimbing II,
6. Dr. Munti Sarida, S.Pi., M.Sc. yang telah menyalurkan penulis ke Laboratorium Metabolomik Unit Laboratorium Riset Unggulan IPB,
7. Didik Huswo Utomo dan Eka Diyah Putri serta pihak Institut Bioinformatika Indonesia atas layanan dan bimbingan dalam pengolahan data penelitian,
8. Keluarga T. Simamora/br. Nadeak atas dukungan doa dan finansial kepada penulis,

9. Indah Falupi, Desmi Purnama, Panji Manggala, Michael Bagus, Alfredo Ompusunggu, Melissa Theresia, dan Rifqa Atamaii yang telah memberi bantuan dalam pengambilan sampel penelitian dan mengurus berkas skripsi,
10. Reynaldo Gemmy yang selalu memberi dukungan baik secara emosional maupun material,
11. Velda Reissa, Sulistya, Cahaya, dan Intan Maharani yang telah mendukung penulis dalam menyusun skripsi selama indekos bersama,
12. Aqilla Fadya, Nata Trisna, Melati Laurensia, Fenti Dwi, Dwi Puspita, dan seluruh mahasiswa Program Studi Ilmu Kelautan 2018 yang telah memberi dukungan dan bantuan selama perkuliahan hingga pengurusan berkas skripsi,
13. Team D yang selalu menyemangati penulis.

Dengan adanya penelitian yang dilakukan, penulis berharap dapat membantu dan memberi informasi kepada mahasiswa lain dan juga masyarakat umum. Penulis juga memohon maaf apabila terdapat banyak kesalahan dalam penulisan penelitian.

Bandar Lampung, 14 Juni 2023

Caroline Lydia Aulia
NPM.1814221034

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	iii
DAFTAR GAMBAR	iv
DAFTAR LAMPIRAN	v
I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.5 Kerangka Pemikiran	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Bioekologi Spons	6
2.1.1 Habitat dan Distribusi Spons	7
2.1.2 Reproduksi Spons	7
2.1.3 Makanan dan Cara Makan Spons	8
2.1.4 Faktor Pembatas	9
2.1.5 Klasifikasi dan Identifikasi	10
2.1.6 Spesies <i>Stylissa massa</i>	11
2.2 Bioprospeksi Spons	12
2.3 Potensi <i>Stylissa</i> sebagai Antikanker Payudara	13
2.4 Kanker Payudara	15
2.5 Reseptor Kanker Payudara	15
2.6 Interaksi Ligan dan Reseptor	16
2.7 <i>Molecular Docking</i> dalam Uji <i>in Silico</i>	17
III. METODE PENELITIAN	
3.1 Waktu dan Tempat	19
3.2 Alat dan Bahan	19
3.3 Metode Penelitian	20
3.4 Prosedur Penelitian	21
3.4.1. Pengambilan dan Ekstraksi Sampel Spons <i>Stylissa massa</i>	21
3.4.2 Isolasi senyawa aktif pada <i>Stylissa massa</i>	25
3.4.3 Evaluasi Potensi Senyawa <i>Stylissa massa</i>	26
3.4.4 Prediksi Protein Target	27
3.4.5 <i>Molecular Docking</i>	28

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN
4.1 Identifikasi Senyawa <i>Stylissa massa</i>	30
4.2 Potensi Senyawa <i>Stylissa massa</i>	34
4.2.1 Interaksi Protein-Protein Kanker Payudara.....	38
4.2.2 Aktivitas Antikanker Payudara	41
4.3 <i>Molecular Docking</i>	43
4.4 Visualisasi Hasil <i>Molecular Docking</i>	46
4.4.1 Visualisasi Senyawa Asam Flufenamat dengan Reseptor 7MFC.....	47
4.4.2 Visualisasi Senyawa Asam Flufenamat dengan Reseptor 4JXF.....	50
4.4.3 Visualisasi Senyawa Asam Flufenamat dengan Reseptor 6CK3.....	53
4.4.4 Visualisasi Senyawa Asam Flufenamat dengan Reseptor 2FO0	55
4.4.5 Visualisasi Senyawa <i>Hymenamide C</i> dengan Reseptor 2AOA	57
4.4.6 Visualisasi Senyawa <i>Hymenamide C</i> dengan Reseptor 6TPK.....	60
V. KESIMPULAN DAN SARAN
5.1 Kesimpulan	63
5.2 Saran.....	63
DAFTAR PUSTAKA
LAMPIRAN

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Alat yang digunakan pada penelitian	19
2. Bahan yang digunakan pada penelitian.....	20
3. Nama senyawa hasil analisis LC-HRMS	32
4. Senyawa <i>Stylissa massa</i> dari database KNApSAcK	32
5. Senyawa <i>Stylissa massa</i> beserta SMILES	33
6. Senyawa <i>Stylissa massa</i> yang terkait dengan protein target kanker payudara dari SEA Search Server	37
7. Statistik jaringan iteraksi antar target dan fungsi jaringan terhadap kanker payudara dari ke-388 protein target	40
8. Protein target terkait hasil PPI melalui STRING-DB	40
9. Prediksi senyawa antikanker payudara	42
10. Protein target kanker payudara yang dipilih untuk diuji.....	43
11. <i>Molecular docking</i> antara ligan dan reseptor	44
12. Penentuan posisi <i>docking</i> dengan <i>grid box</i>	45
13. Residu asam amino ligan asam flufenamat dan ligan asli 7MFC.....	50
14. Residu asam amino ligan asam flufenamat dan ligan asli 4JXF.....	53
15. Residu asam amino ligan asam flufenamat dan ligan asli 6CK3.....	55
16. Residu asam amino ligan asam flufenamat dan ligan asli 2FO0	57
17. Residu asam amino ligan <i>hymenamide C</i> dan ligan asli 2AOA	60
18. Residu asam amino ligan <i>hymenamide C</i> dan ligan asli 6TPK.....	61

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Kerangka pemikiran	5
2. Anatomi tubuh spons	8
3. <i>Stylissa massa</i>	11
4. Prosedur penelitian secara umum	21
5. Sampel spons <i>Stylissa massa</i>	23
6. Spikula <i>Stylissa massa</i> kategori <i>styles</i>	23
7. Pengambilan dan ekstraksi sampel spons <i>Stylissa massa</i>	24
8. Isolasi senyawa <i>Stylissa massa</i>	26
9. Evaluasi potensi senyawa <i>Stylissa massa</i>	27
10. Prediksi protein target	28
11. Prosedur <i>molecular docking</i>	29
12. Kromatogram LC-HRMS ekstrak spons <i>Stylissa massa</i>	31
13. Penapisan dan <i>overlapping</i> target dari SEA dengan target kanker payudara (BC) dari TTD menggunakan situs Venny 2.1.0.	36
14. <i>Protein-protein interactions</i> (PPI) terhadap ke-388 protein target.....	39
15. <i>Protein-protein interactions</i> (PPI) terhadap 50 protein target kanker	41
16. Visualisasi <i>docking</i> asam flufenamat dengan 7MFC.....	49
17. Visualisasi <i>docking</i> asam flufenamat dengan 4JXF.....	52
18. Visualisasi <i>docking</i> asam flufenamat dengan 6CK3.....	54
19. Visualisasi <i>docking</i> asam flufenamat dengan 2FO0	56
20. Visualisasi <i>docking hymenamide C</i> dengan 2AOA	59
21. Visualisasi <i>docking hymenamide C</i> dengan 6TPK	61

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Data senyawa LC-HRMS	75
2. Prediksi aktivitas antikanker	80
3. Prediksi protein target dari SEA <i>Search Server</i>	84
4. Protein target kanker payudara dari <i>therapeutic target database</i>	94
5. Protein target kanker payudara dari STRING-DB	96
6. Protein target (PDB ID) asam flufenamat.....	100
7. Protein target (PDB ID) <i>hymenamide C</i>	104
8. Daftar singkatan	105
9. Daftar simbol	107
10. Glosarium.....	108

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Potensi sumber daya genetik laut yang tinggi dapat menjadi bagian dari ekonomi biru, seperti dalam penemuan obat-obatan baru. Produk bioteknologi kelautan yang dikembangkan dari sumber laut dangkal hingga dalam memiliki pasar yang menjanjikan, termasuk senyawa antikanker, antibiotik, dan antivirus. Pada tahun 2002, penjualan global produk bioteknologi kelautan diperkirakan mencapai sekitar 2,4 miliar USD. Salah satu contoh proyek yang mengeksplorasi potensi sumber daya genetik laut adalah proyek yang digagas oleh The Mauritius Oceanographical Institute (MOI) untuk menilai potensi farmasi sumber daya laut yang ditemukan di Zona Ekonomi Eksklusif (ZEE) Mauritius. MOI berfokus pada sifat antikanker dari zat-zat yang ditemukan dalam spons laut Mauritius. Penelitian tersebut dapat membuka peluang pengembangan produk farmasi baru yang berasal dari sumber daya laut dan berpotensi menjadi bagian dari ekonomi biru (United Nations, 2014).

Spons mewakili sumber keanekaragaman hayati yang besar, memainkan peran penting dalam farmakologi kelautan, bidang studi yang menarik dan berkembang yang memadukan bioteknologi biru dan farmakologi senyawa alami (Mannelli *et al.*, 2021). Karena tidak dapat bergerak dan kurangnya pertahanan fisik, spons mengembangkan senyawa metabolit sekunder untuk mencegah pemangsa atau bersaing memperebutkan ruang hidup (Manelli *et al.*, 2021). Spons laut memiliki metabolit sekunder dengan aktivitas antimikroba, sitotoksik, dan antitumor yang sangat potensial sehingga menjadi kepentingan farmasi sebagai bahan baku obat dan bioteknologi (Pabel *et al.*, 2003; Marzuki, 2018). Berbagai senyawa golongan

metabolit sekunder yang diperoleh dari spons antara lain alkaloid, terpenoid, asetogenin, dan lain-lain (Marzuki, 2018). Senyawa penuntun dari spons sering ditemukan sebagai agen farmasi yang menjanjikan. Terdapat tiga obat laut yang disetujui, antikanker sitarabin (ara-C),³ antivirus vidarabine (ara-A), dan antikanker eribulin mesylate 4 yang diturunkan dari spons (He *et al.*, 2020).

Stylissa massa merupakan salah satu spesies spons turunan genus *Stylissa* dari kelas Demospongiae. Bioprospeksi senyawa aktif dari spons *Stylissa massa* sudah banyak dilakukan oleh peneliti-peneliti dari berbagai negara. Hal tersebut disebabkan distribusi *Stylissa massa* yang terbilang cukup luas. Investigasi kimia spons laut genus *Stylissa* dilakukan oleh Fouad *et al.*, (2012) di Kepulauan Derawan, Berau, Kalimantan, Indonesia pada tahun 2008. Investigasi tersebut menemukan kandungan empat alkaloid brominasi baru, termasuk *12-N-methyl stevensin* (1), *12-N-methyl-2- debromostevensine* (2), *3-debromolatondaine B methyl ester* (3), *3-de-bromolatondaine A* (4), kemudian delapan alkaloid yang diidentifikasi sebagai *Z-hymenialdisine* (5), *Z-debromohymenialdisine* (6), *stevensine* (7), *2-debromostevensine* (8), *3-bromoaldizine* (9), *3,4-dibromopyrrole-2-carbamide* (10), *latondaine A* (11), dan *latondaine B methyl ester* (12).

Metabolit sekunder lainnya dari *Stylissa* telah diisolasi dan diidentifikasi yang berasal dari Pulau Motupore di Papua Nugini (*debromohymenialdisine* (DBH)), Myanmar (*stylissaol A*, *2-bromoaldisine*, *aldisine*, *spongiacidin D*, dan *Z-hymenialdisine*) (Win *et al.*, 2021), Rote Island (*palau'amine*, *hymenialdisine*, *ectyoplaside B*, *hymenamide C*, *hymenamide H*) (Presson *et al.*, 2022), Thailand (*8-isocyano-15-formamido-amphilect-11(20)-ene*, *8-isothiocyano-15-formamido-amphilect-11(20)-ene*, *8-isocyano-15-formamidoamphilect-11(20)-ene*, dan *7-formamidoamphilecta-11(20),15-diene*) (Chanthathamrongsiri, 2014).

Menurut Wu *et al.*, (2012), perlu dan penting untuk memperkenalkan konsep baru sistem kedokteran klinis ke dalam penelitian kanker, untuk mengintegrasikan sistem biologi, ilmu klinis, teknologi berbasis *omics*, bioinformatika dan ilmu komputasi untuk meningkatkan diagnosis, terapi dan prognosis penyakit.

Bioinformatika merupakan ilmu gabungan dari ilmu biologi dan ilmu teknik informasi. Bioinformatika menyimpan, mengekstrak, mengorganisir, menganalisis, menginterpretasikan serta menggunakan informasi dari sekuens biologi dan molekul. Secara umum, ilmu tersebut diartikan sebagai *software* pada teknologi komputer dan analisis untuk menyimpan dan menampilkan data-data biologi menggunakan program *software* dan didukung oleh kesediaan internet (Fatchiyah, 2015).

Salah satu metode penelitian yang menggunakan konsep *database* dan aplikasi yang terdapat di bioinformatika yaitu metode *in silico*. *In silico* merupakan karakteristik penelitian yang dilakukan menggunakan komputer atau melalui simulasi komputer (Khaerunnisa dkk., 2020). Uji *in silico* salah satu metode yang sering digunakan untuk melakukan penemuan senyawa obat baru untuk menambah efisiensi pada optimasi aktivitas senyawa induk (Hardjono, 2013). Metode *in silico* yang sering digunakan yaitu metode *molecular docking*. Metode tersebut dapat membantu penapisan secara *in silico* untuk memprediksi apakah kandungan senyawa aktif dalam tumbuhan tertentu berpotensi sebagai antikanker dengan membandingkan senyawa yang sudah diketahui efeknya sebagai antikanker (Yusransyah dkk., 2016).

1.2 Rumusan Masalah

Penelitian mengenai senyawa aktif yang berasal dari biota laut spons *Stylissa massa* yang berpotensi sebagai senyawa antikanker bukanlah sesuatu yang baru. Sun *et al.*, (2016) menyatakan bahwa senyawa *stylissatin B* yang diisolasi dari *Stylissa massa* berpotensi menghambat aktivitas sitotoksik terhadap beberapa sel kanker. Dengan demikian, dapat dirumuskan masalah penelitian yaitu:

1. senyawa aktif apa yang dihasilkan oleh spons *Stylissa massa* yang memiliki aktivitas antikanker payudara?, dan
2. bagaimana mekanisme molekuler dari senyawa aktif yang berpotensi sebagai antikanker payudara?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian yaitu:

1. identifikasi dan penapisan senyawa bioaktif dari spons *Stylissa massa* yang memiliki aktivitas antikanker payudara, dan
2. mengevaluasi mekanisme molekuler dari senyawa yang berpotensi sebagai antikanker payudara yang terdapat di spons *Stylissa massa* secara *in silico*.

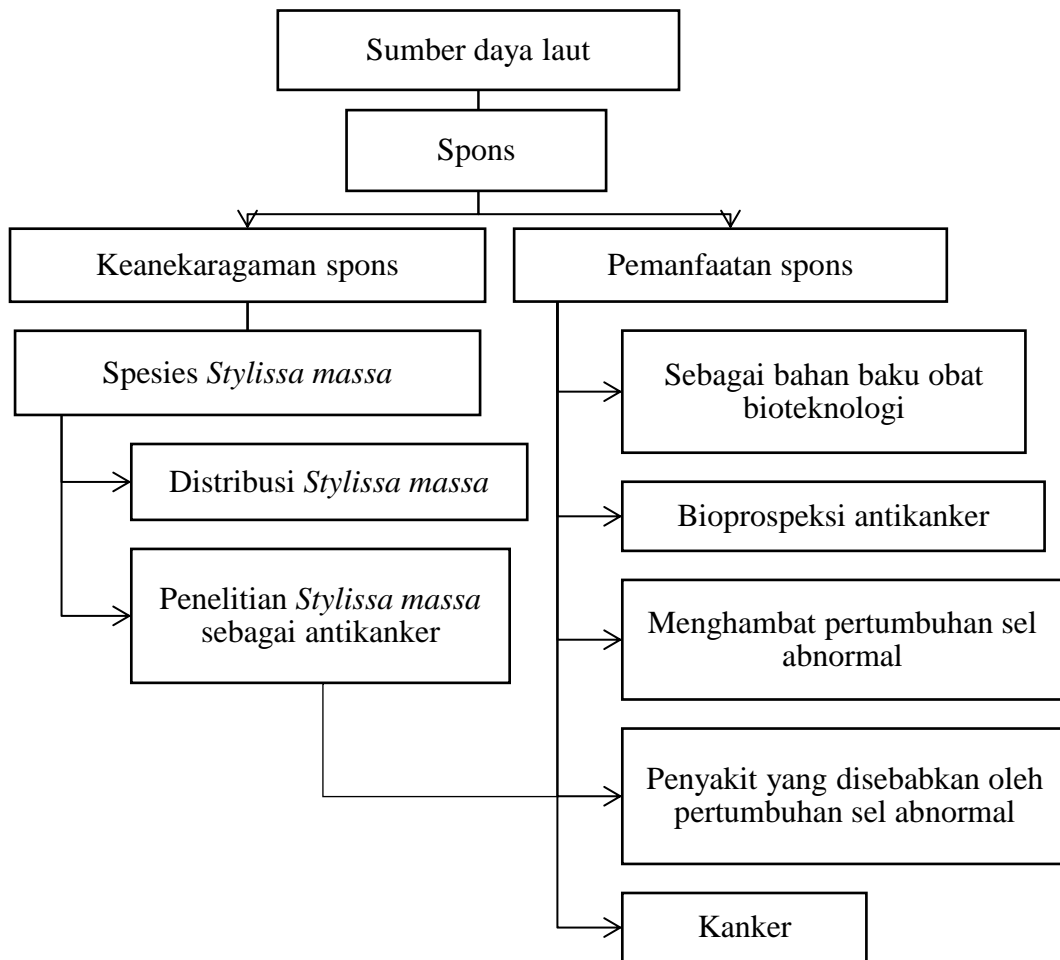
1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian yaitu:

1. hasil penelitian diharapkan dapat menemukan dan menginformasikan senyawa aktif dari *Stylissa massa* yang berpotensi sebagai antikanker payudara sehingga menjadi senyawa kandidat untuk penelitian lanjutan, dan
2. hasil penelitian diharapkan meningkatkan kesadaran masyarakat akan potensi biota laut sehingga dapat melestarikan kelautan Indonesia.

1.5 Kerangka Pemikiran

Indonesia merupakan negara dengan keanekaragaman hayati (biodiversitas) laut yang besar. Biodiversitas mencakup ekosistem dan biota yang berinteraksi di dalamnya. Untuk berinteraksi dengan lingkungannya, organisme menggunakan metabolit sekundernya. Salah satu biota laut adalah spons, di mana spons diketahui sebagai sumber metabolit sekunder yang aktif dan memiliki banyak kegunaan diantaranya adalah sebagai antikanker. Dengan demikian, dilakukan penelitian tentang bioaktivitas dari spons spesies *Stylissa massa* dari perairan Pulau Pahawang, Lampung. *Stylissa massa* diekstrak senyawa metabolit sekundernya, kemudian diuji aktivitasnya secara *in silico*. Metode tersebut digunakan dengan tujuan untuk memanfaatkan teknologi komputasi dalam penelitian produk natural kelautan. Uji *in silico* mencakup metode prediksi bioaktivitas senyawa dan reseptor, serta penambatan molekuler. Dengan demikian, akan didapatkan senyawa bioaktif dari spons *Stylissa massa* yang memiliki aktivitas antikanker. Kerangka pemikiran ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Kerangka pemikiran

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bioekologi Spons

Spons merupakan organisme laut invertebrata yang berasal dari filum porifera (Haedar *et al.*, 2016). Porifera adalah hewan multiseluler yang paling sederhana. Hewan tersebut mempunyai ciri yaitu tubuhnya berpori, maka dari itu porifera dikenal dengan hewan spons (Marzuki, 2018). Fungsi ekologi spons di ekosistem terumbu karang dapat dikaitkan dengan faktor abiotik dan biotik. Faktor abiotik berkaitan dengan siklus nutrient, bioreosi dan konsolidasi substrat dan bioindikator pencemaran. Adapun faktor biotik berkaitan dengan kemampuan spons sebagai inang, umpan dan pelindung serta kompetisi dengan biota bentik lainnya (Hadi, 2018).

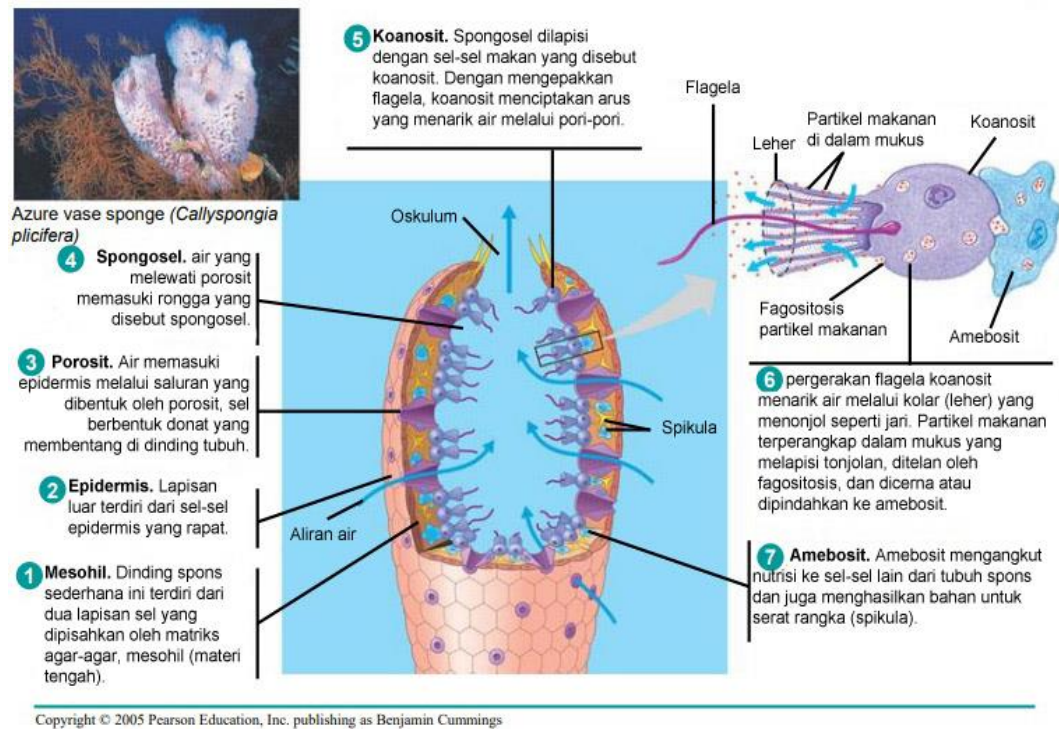
Fungsi ekologi spons memungkinkan siklus materi dan energi dalam ekosistem dapat terus berjalan. Spons juga menjadi penopang biodiversitas yang sangat efektif, yaitu kemampuannya berasosiasi dengan biota yang sangat beragam dan berperan memberi sumbangan *biomass* terhadap ekosistem terumbu karang (Hadi, 2018). Berdasarkan ulasan Bell (2008), fungsi ekologi spons dikategorikan ke dalam tiga bidang, yaitu: (a) dampak pada substrat (bioerosi, pembentuk ekosistem terumbu karang, stabilisasi substrat, konsolidasi dan regenerasi); (b) rangkaian bentopelagis (siklus karbon, siklus silikon, penipisan oksigen dan siklus nitrogen); dan (c) asosiasi dengan organisme lain (memfasilitasi produksi primer, produksi sekunder, penyediaan mikrohabitat, spons sebagai pelepas bahan kimia dan spons sebagai alat untuk organisme lain).

2.1.1 Habitat dan Distribusi Spons

Spons merupakan salah satu jenis metazoa paling purba dengan distribusi bentik yang tersebar di mana-mana. Habitatnya di laut mencapai 830 spesies yang terdiri dari tiga kelas, yaitu Calcarea, Demospongiae, dan Hexactinellidae. Sebaran spons dapat ditemui pada setiap kondisi kedalaman yang berbeda dengan tingkat kecerahan yang cukup untuk pertumbuhannya. Spons terdistribusi di sepanjang garis lintang mulai dari zona intertidal hingga zona subtidal pada suatu perairan. Spons juga dapat ditemukan di ekosistem terumbu karang (Pabel *et al.*, 2011; Haedar *et al.*, 2016; Marzuki, 2018). Spons dapat terakumulasi di terumbu karang, akar tunjang *mangrove*, pantai intertidal berbatu, gua dan celah, bahkan di beberapa dasar lunak subtidal (Wulff, 2012). Komunitas spons juga dapat hidup di substrat lumpur yang terkontaminasi hidrokarbon dan logam berat dan mampu menyerap kontaminan logam untuk waktu yang lama, sehingga spons dapat dijadikan indikator logam berat (Venkateswara *et al.*, 2009; Gebregewergis, 2020; Angela & Marzuki, 2021). Distribusi spons di berbagai tipe habitat disebabkan oleh cara hidup spons yang menyaring air secara efektif sehingga tidak memerlukan banyak energi, dan larvanya mampu tumbuh pada semua tipe substrat (Van Soest *et al.*, 2012).

2.1.2 Reproduksi Spons

Spons melakukan reproduksi secara aseksual maupun seksual. Spons memiliki tiga ciri reproduksi aseksual yakni fragmentasi, dengan tunas, dan membentuk *gemmule*. *Gemmule* terbentuk dari kumpulan sel di dalam mesohil yang diperkaya dengan makanan dan dikelilingi oleh penutup resisten. Pada reproduksi seksual, beberapa spons menghasilkan ovum atau sperma. Umumnya, spons menghasilkan ovum dan juga sperma pada satu individu atau dapat disebut sebagai hewan yang bersifat hermafrodit, yakni jenis hewan yang memiliki alat reproduksi ganda. Namun, sangat sulit membedakan spons jantan dan betina, meskipun sebagian spons memiliki identitas kelamin yang jelas antara jantan dan betina (*dioecious*). Spons hermafrodit memproduksi sel telur dan sel sperma pada waktu yang berbeda (Marzuki, 2018).



Gambar 2. Anatomi tubuh spons
Sumber: Campbell & Reece (2005)

Reproduksi secara seksual dilakukan dengan pembuahan sel telur suatu porifera oleh sel sperma porifera yang lain secara internal. Masing-masing individu menghasilkan sperma dan ovum. Sperma berkembang dari koanosit dan telur berkembang dari koanosit atau arkeosit. Spermatogenesis terjadi dalam kantong sperma (Brusca & Brusca, 1990). Sel-sel sperma dilepaskan ke dalam air, kemudian masuk ke tubuh spons lain bersama aliran air melalui ostium untuk melakukan fertilisasi. Hasil pembuahan berupa zigot yang berkembang menjadi larva bersilia. Larva tersebut keluar dari tubuh porifera induk melalui oskulum, kemudian melekat di dasar perairan untuk tumbuh menjadi dewasa (Marzuki, 2018).

2.1.3 Makanan dan Cara Makan Spons

Biota laut spons dikenal dengan *filter feeders*, yaitu mencari makanan dengan cara mengisap dan menyaring air laut yang mengandung makanan melalui pori-pori (ostium) dan memompakan air keluar melalui oskulum. Makanan porifera berupa mikroorganisme termasuk bakteri yang hidup di laut, mikroalga, detritus, serta

fitoplanton yang terbawa oleh aliran air dan berbentuk cairan (Umami, 2019; Marzuki, 2018). Makanan yang banyak dimakan spons adalah partikel organik karbon. Spons yang hidup di substrat lumpur dapat menyerap sari makanan dari lumpur, sehingga dapat terakumulasi berbagai jenis polutan (Angela & Marzuki, 2021). Terdapat sel sel yang berperan dalam pergerakan air dalam tubuh spons dan penyediaan makanan. Sel-sel tersebut ialah sel *collencytes*, *sclerocytes*, *spongocytes*, dan *choanocytes*, terletak di dalam mesohil sejajar dengan spongosel. Pencernaan dilakukan secara intraseluler di dalam koanosit dan amebosit. Makanan yang telah dicerna disimpan di dalam amebosit sebagai lemak, karbohidrat dan protein (Marzuki, 2018).

2.1.4 Faktor Pembatas

Eksistensi serta pertumbuhan spons memiliki beberapa faktor pembatas internal dan eksternal. Hal tersebut biasanya tergantung pada sejumlah parameter fisik dan biologis seperti kedalaman, kecerahan air, salinitas, aliran air, konsentrasi nutrisi, jenis substrat dan predasi. Pengaruh salinitas dan pH pada spons kurang dipelajari dibanding pengaruh kedalaman dan kekeruhan, dan tampaknya bergantung pada spesies (Beepat *et al.*, 2013). Hambatan lainnya bagi spons dalam pertumbuhannya adalah pencahayaan (Marzuki, 2018). Kedalaman memengaruhi cahaya yang masuk ke dalam perairan, di mana semakin dalam perairan semakin kurang cahaya yang masuk ke dalam. Kedalaman memberi pengaruh yang nyata terhadap pertumbuhan mutlak dan laju pertumbuhan spesifik. Kedalaman memengaruhi tingkat pertumbuhan spons di mana spons membutuhkan intensitas cahaya untuk tumbuh dan berkembang. Penetrasi cahaya matahari yang optimum memicu pertumbuhan (pembelahan sel) dan metabolisme alga mikrosimbion. Metabolisme yang intensif akan menghasilkan buangan (sekresi) metabolis yang dapat dimanfaatkan kembali oleh inangnya (spons) untuk proses metabolisme (Asran *et al.*, 2018).

2.1.5 Klasifikasi dan Identifikasi

Identifikasi spons dapat dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis. Identifikasi secara makroskopis dilakukan dengan mengetahui kondisi tempat asal spesies, bentuk luar, ukuran, oskula, konsistensi, permukaan, dan warna, sedangkan identifikasi secara mikroskopis yaitu mengidentifikasi koanosit, spongosel, dan spikula (Amir & Budiyanto, 1996). Identifikasi spons secara mikroskopis atau menggunakan mikroskop (histologi) umumnya memerlukan dua bentuk sediaan, yaitu: a.) sediaan spikula (untuk spesies dengan kerangka mineral) untuk menentukan keragaman dan geometri spikula di dalam kerangka; b.) sistem saluran air untuk menentukan struktur kerangka dan aspek histologi lainnya. Penggunaan mikroskop memungkinkan pengamatan spikula dengan memperbesar sampel spons untuk mengidentifikasi bentuk, ukuran, dan komposisi kimia spikula (Hooper, 2003). Tubuh porifera pada umumnya asimetris atau tidak beraturan, meskipun ada yang simetris radial. Bentuknya ada yang seperti tabung, vas bunga, mangkuk, atau bercabang seperti tumbuhan. Tubuhnya memiliki lubang-lubang kecil atau berpori (ostium). Warna tubuh bervariasi, ada yang berwarna pucat, dan ada yang berwarna cerah, seperti merah, jingga, kuning bahkan ungu. Identitas utama spons adalah jenis hewan berpori, bersifat *filter feeder* (menerap, menyaring, dan menyempatkan) nutrisi dalam memperoleh makanan (Marzuki, 2018).

Penggolongan spons terdiri atas 3 kelas utama dan 1 kelas turunan, sehingga dari beberapa sumber, ada yang mengatakan spons terdiri atas 4 kelas, yaitu:

- a. kelas Demospongiae adalah kelompok spons yang dominan di antara porifera masa kini. Umumnya hidup di laut, tetapi ada pula yang hidup di air tawar. Kelas Demospongiae mendominasi lebih dari 90% spesies spons (Marzuki, 2018). Demospongiae telah menarik perhatian yang signifikan dari berbagai disiplin ilmu karena memiliki molekul kimia dan protein seperti kolagen (Lowe *et al.*, 2016);
- b. kelas Calcarea mempunyai struktur sederhana dibandingkan dengan yang lainnya. Hidup di daerah pantai yang dangkal. Calcarea memiliki rangka yang tersusun dari kalsium karbonat. Kebanyakan bentuk tubuh calcarea seperti vas bunga, dompet, kendi, atau silinder dengan tinggi kurang dari

10 cm misalnya *Leucosolenia*, *Clathrina*, *Grantia*, *Scypha*, dan *Sycon*. Spikulanya terdiri dari kalsium karbonat dalam bentuk *calcite* (Marzuki, 2018);

- c. kelas Hexactinellida memiliki spikula yang terdiri dari silikat dan tidak mengandung spongin. Spikulanya berbentuk "triaxon", di mana masing-masing bidang terdapat dua jari-jari (*Hexactinal*). Spons turunan Hexactinellida hanya terdapat di laut dalam (< 500 m). Sebagian besar spesies spons memiliki kemampuan untuk melakukan gerakan yang terkoordinasi di seluruh tubuh mereka, terutama kontraksi dari *pinacocytes* (Amir & Budiyanto, 1996; Marzuki, 2018), dan
- d. kelas Sclerospongiae yang sering kali hidup pada perairan dalam di terumbu karang atau gua, celah batuan bawah laut atau terowongan di terumbu karang. Sclerospongiae merupakan tipe *leuonoid* yang kompleks yang mempunyai spikula silikat dan serat spongin (Ruppert & Barnes, 1994).

2.1.6 Spesies *Stylissa massa*

Klasifikasi spons spesies *Stylissa massa* menurut de Voogd *et al.*, (2022) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Animalia
 Phylum : Porifera
 Class : Demospongiae
 Subclass : Heteroscleromorpha
 Order : Scopalinida
 Family : Scopalinidae
 Genus : *Stylissa* (Hallman, 1914)
 Species : *Stylissa massa* (Carter, 1887)



Gambar 3. *Stylissa massa*

Kerangka dan spikula tipe *styles* terdapat dalam genus *Stylissa* dari famili Halichondrid. Beberapa spesies dari genus *Stylissa* seperti *Stylissa massa* dan *Stylissa carteri* sebelumnya dianggap genus *Axinella* karena kerangka retikulatnya yang samar-samar dan tidak memiliki spesialisasi permukaan yang jelas. Famili

Agelasidae memiliki hubungan dekat dengan turunan *Stylissa* yang ditunjukkan oleh fragmen gen dan senyawa biokimia (Erpenbeck *et al.*, 2006). Menurut Redmond *et al.* (2013), spesies *Stylissa spp.* yang termasuk dalam famili Agelasidae perlu ditempatkan dalam genus yang sudah ada atau baru. Revisi spesies yang ditetapkan ke genus *Stylissa* sedang dalam proses dan akan mencerminkan status taksonomi baru. Kemudian taxonomi *Stylissa massa* dimasukkan ke dalam kelas demospongiae dari famili Scopalinidae, diperbarui oleh Boury-Esnault & Nicole 2018 dengan AphiaID 165711 (World Register of Marine Species) (de Voogd *et al.*, 2022).

Stylissa massa memiliki permukaan yang terlihat sedikit bergerigi atau sedikit berumbai. Teksturnya dapat dikompresi, seperti roti basah, berserat ke arah pangkal. Warna oranye terang, di area teduh warnanya memucat menjadi oranye keemasan. *Stylissa massa* adalah salah satu spons yang paling umum dan menyolok di terumbu tepi dangkal, terumbu laguna, di padang lamun dan di anjungan terumbu intertidal di Palau. *Stylissa massa* tercatat di danau laut di Palau dan Papua Barat dan diketahui dari Zanzibar di barat hingga Tonga di Pasifik Timur (Kelly & Bell, 2016). *Stylissa massa* memiliki permukaan yang kasar dan mikrohispid (berbulu tipis), kompresibel, padat, dan lunak. *Stylissa massa* memiliki warna kuning yang cerah ketika di dalam air dan kuning kusam dalam alkohol; berubah menjadi oranye saat terekspos. Tipe *megascleres* (spikula) *Stylissa massa* adalah *styles*, lurus hingga sedikit melengkung (kisaran: 443-572 x 7,1-19,5 μm ; rata-rata: 493 x 13,5 μm); tidak memiliki *microscleres* (Longakit *et al.*, 2005).

2.2 Bioprospeksi Spons

Bioprospeksi didefinisikan sebagai pencarian sistematis dan terorganisir untuk produk yang berasal dari sumber daya hayati yang dapat dimanfaatkan dan dikembangkan lebih lanjut untuk komersialisasi dan manfaat masyarakat secara keseluruhan (Oyemitan, 2017). Kegiatan bioprospeksi senyawa bahan alam dari lingkungan laut telah menghasilkan ribuan senyawa baru (Leal *et al.*, 2012). Banyak senyawa yang berasal dari spons laut menjadi prekursor untuk pengembangan obat baru. Spons adalah bagian dari biota yang berperan sebagai penyusun ekosistem

terumbu karang yang memiliki senyawa bioaktif yang jarang diketahui. Spons mengandung senyawa aktif dengan persentase keaktifan lebih besar dibandingkan dengan senyawa yang dihasilkan oleh tumbuhan darat (Marzuki, 2018).

Spons disebut sebagai salah satu kontributor utama MNP (*marine natural product*) yang baru. Belum lama, spons menjadi fokus utama dari banyak minat dalam kegiatan bioprospeksi karena dua faktor utama, yaitu: pertama, spons membentuk asosiasi yang erat dengan berbagai macam mikroorganisme yang beragam; kedua, spons merupakan salah satu sumber metabolit sekunder yang aktif secara biologis (Bramhachari *et al.*, 2016). Metabolit sekunder tersebut dihasilkan dari sistem *biodefense* dari dalam tubuhnya, senyawa tersebut memiliki potensi sebagai sumber bahan baku obat-obatan untuk mengatasi berbagai jenis penyakit dan umumnya dimanfaatkan sebagai bahan farmasi (Motomasa, 1998). Ekstrak metabolit sekunder dari spons diyakini terdapat senyawa bioaktif yang memiliki sifat antileukemia, menghambat aktivitas enzim, sitotoksin, antivirus, antitumor, anti-fungi, anti inflamasi (Haedar *et al.*, 2016). Menurut Rajendran (2016), spons merupakan salah satu sumber senyawa antikanker yang potensial.

Pada penelitian tinjauan Mannelli *et al.*, (2021), sejumlah besar bukti mengenai penelitian praklinis produk turunan spons dengan aktivitas antikanker dan antimikroba telah dilaporkan. Terdapat lebih dari 20 spesies spons berbeda yang dikumpulkan dari Laut Mediterania terbukti mengandung metabolit dengan aktivitas antiproliferatif/sitotoksik pada sel kanker. Beberapa molekul tersebut telah terbukti menjadi alat yang ampuh melawan kanker. Misalnya, molekul yang diekstraksi dari Demospongiae, yang disebut *spongosin*, yaitu *spongouridine* dan *spongothymidine*, telah digunakan sebagai senyawa untuk sintesis agen kemoterapi kanker, sitarabin (Cytosar-U®), flu darabin fosfat (Fludara®), dan nelarabin (Atriance®).

2.3 Potensi *Stylissa* sebagai Antikanker Payudara

Spesies spons turunan dari genus *Stylissa* diketahui memiliki bioaktif yang dapat dimanfaatkan. Dalam penelitian Sun *et al.*, (2016), ditemukan 3 senyawa *cycloheptapeptides* baru yaitu *stylissatin B*, *stylissatin C*, dan *stylissatin D*. Ketiga

senyawa tersebut diuji secara *in vitro* terhadap galur sel tumor HCT-116 (galur sel kanker usus besar), HepG2 (sel kanker hati), BGC-823 (sel kanker lambung), NCI-H1650 (sel kanker paru-paru), A2780 (sel kanker ovarium), dan MCF7 (sel kanker payudara) dengan metode MTT. Senyawa *stylissatin B* menunjukkan efek penghambatan terhadap galur sel tumor terpilih dengan nilai IC50 berurutan 4,4; 2,3; 10,6; 9,8; 3,0; and 4,8 μM , sedangkan senyawa lainnya menunjukkan efek sitotoksik lemah dengan nilai IC50 lebih dari 10 μM .

Uji MTT dilakukan untuk mengevaluasi efek sitotoksik fraksi etil asetat *Stylissa carteri* pada sel MCF-7, HCC-1954, dan MDA MB 231. Data mengungkapkan bahwa fraksi *Stylissa carteri* merangsang kematian sel di semua galur sel. Hasilnya, IC50 dari fraksi etil asetat *Stylissa carteri* menunjukkan pengaruh tinggi pada sel HCC-1954 dan MDA MB 231 dan tetapi tidak pada sel MCF-7, dengan nilai masing-masing IC50 4,1 $\mu\text{g/mL}$, 3,9 $\mu\text{g/mL}$, dan 123,8 $\mu\text{g/mL}$ (Bashari *et al.*, 2022).

Investigasi kimia spons laut spesies *Stylissa* yang dilakukan oleh Fouad *et al.*, (2012) di Kepulauan Derawan, Berau, Kalimantan, Indonesia pada tahun 2008, diketahui mengandung empat alkaloid brominasi baru, termasuk *12-N-metil stevensin* (**1**), *12-N-metil-2- debromostevensine* (**2**), *3-debromolatondaine B metil ester* (**3**), *3-debromolatondaine A* (**4**), kemudian delapan alkaloid yang dikenal diidentifikasi sebagai *Z-hymenialdisine* (**5**), *Z-debromohymenialdisine* (**6**), *stevensine* (**7**), *2-debromostevensine* (**8**), *3-bromoaldizine* (**9**), *3,4-dibromo pyrrole-2-carbamide* (**10**), *latondaine A* (**11**), dan *latondaine B metil ester* (**12**). Semua senyawa yang diisolasi diuji untuk sitotoksitasnya terhadap lini sel limfoma tikus L5187Y. Hasilnya menunjukkan bahwa hanya **1**, **5**, **6**, dan **11** menunjukkan aktivitas *in vitro* yang signifikan dengan nilai EC50 masing-masing 3,5; 1,8; 2,1 dan 9,0 mg/mL.

Debromohymenialdisine (DBH) diproduksi oleh spons laut *Stylissa flabeliformis* yang diperoleh dari Pulau Motupore di Papua Nugini. DBH menunjukkan sitotoksitas sedang terhadap sel kanker MCF-7 dengan nilai IC50 25 mM. Terkait

dengan radioterapi, penggunaan DBH pada konsentrasi non sitotoksik 3 μ M terbukti mengurangi ekspresi pCHK1/2 dan proliferasi sel kanker payudara MCF-7. DBH juga menurunkan tingkat pertumbuhan kanker sel induk dengan cara yang bergantung waktu (Hussain *et al.*, 2023).

2.4 Kanker Payudara

Kanker menjadi salah satu penyebab kematian pasien yang paling umum di rumah sakit (Wu *et al.*, 2012). Kanker merupakan penyakit yang menyebabkan terjadinya pertumbuhan tidak normal pada sel jaringan tubuh yang kemudian memicu sel kanker (Maharani, 2012). Angka kasus kanker di Indonesia sebesar 136,2 kasus per 100.000 penduduk (Budhy, 2019). Berdasarkan lembar fakta Global Cancer Observatory (2020) dalam IARC (International Agency for Research on Cancer) WHO, angka kasus kanker baru di dunia pada tahun 2020 yaitu 19.292.789 kasus dengan persentase 11,7% (2.261.419 kasus) untuk kanker payudara. Kanker payudara termasuk salah satu kanker terbanyak di Indonesia dan termasuk urutan kedua penyebab kematian terbanyak (Suryani, 2020). Menurut Anggorowati (2013), WHO mengatakan 8-9% perempuan mengidap kanker payudara dan hal tersebut menyebabkan kanker payudara merupakan salah satu jenis penyakit kanker yang sering terjadi pada perempuan jika dibandingkan dengan penyakit kanker leher rahim. Tidak hanya pada wanita, kasus kanker payudara juga ditemukan pada pria dengan angka kasus mencapai 1.990 kasus pada tahun 2008 di Amerika Serikat (American Cancer Society, 2021). Pada penyakit kanker payudara, salah satu faktor prognosis dan prediktif utama yang diperiksa yaitu reseptor estrogen (Stopeck *et al.*, 2012; Suzuki *et al.*, 2005).

2.5 Reseptor Kanker Payudara

Reseptor adalah target aksi obat yang terutama dan paling banyak dibandingkan dengan target lainnya. Definisi dari reseptor yaitu suatu makromolekul seluler yang secara spesifik berikatan dengan ligan (obat, *neurotransmitter*, hormon) sehingga akan terjadi proses biokimia antara dan di dalam sel yang akhirnya menimbulkan efek pada tubuh (Ikawati, 2018). Reseptor sering digambarkan sebagai

protein yang bisa berikatan ataupun tidak berikatan dengan ligan agonis. Ketika reseptor berikatan dengan ligan agonis, maka akan menghasilkan efek obat (Pranita & Subagiarta, 2017). Jumlah reseptor pada membran sel berubah-ubah, bisa meningkat atau menurun bergantung pada respon terhadap stimuli tertentu.

Struktur sel payudara memiliki reseptor kepada seks steroid yaitu reseptor progesteron (PR), reseptor androgen (AR), dan reseptor estrogen (ER) (Stopeck *et al.*, 2012; Suzuki *et al.*, 2005). Estrogen merangsang pembentukan faktor pertumbuhan oleh sel epitel payudara normal dan oleh sel kanker. Diperkirakan bahwa reseptor estrogen dan progesteron yang normal di epitel payudara, mungkin berinteraksi dengan promotor pertumbuhan, seperti *transforming growth factor*, *platelet-derived growth-factor*, dan faktor pertumbuhan fibroblas yang dikeluarkan oleh sel kanker payudara, untuk menciptakan suatu mekanisme autokrin perkembangan tumor (Hero, 2021). Pada pemeriksaan imunohistokimia dapat diketahui nilai beberapa reseptor kanker payudara, yaitu: reseptor estrogen, reseptor progesterone, dan protein Her-2/neu. Reseptor tersebut dapat dimanfaatkan sebagai *biomarker* untuk prediktif spesifik dan prognosis terhadap pasien pengidap kanker payudara (Kurniati & Romadhon, 2021).

2.6 Interaksi Ligan dan Reseptor

Reseptor merupakan target aksi obat yang utama dan paling banyak. Reseptor didefinisikan sebagai suatu makromolekul seluler yang secara spesifik dan langsung berikatan dengan ligan (obat, hormon, neurotransmitter, senyawa) untuk memicu proses biokimia antara dan di dalam sel yang akhirnya menimbulkan efek. Reseptor biologis umumnya mengikat erat ke ligan alami tunggal. Jika reseptor memang spesifik untuk suatu ligan, jumlah ikatan ligan tidak dipengaruhi oleh keberadaan ligan lain. Interaksi ligan alami dengan reseptor biologis memiliki beberapa sifat, yaitu dapat beraksi sebagai agonis dan antagonis. Jika interaksi bersifat agonis maka suatu ligan yang jika berikatan dengan reseptor dapat menghasilkan efek (memiliki afinitas dan efikasi). Interaksi antagonis yaitu ligan dapat berikatan dengan reseptor tetapi tidak menghasilkan efek apapun. Ikatan ligan dan reseptor bergantung pada kesesuaian atau spesifitas antara dua molekul tersebut, di mana

suatu ligan dapat mengikat satu tipe reseptor tertentu. Spesifisitas ligan dapat dengan mudah dinilai melalui uji pengikatan kompetitif (Attie & Raines, 1995; Ikawati, 2018).

2.7 Molecular Docking dalam Uji *in Silico*

Uji *in silico* adalah metode pengujian yang dilakukan melalui simulasi komputer. Pedro Miranmontes, seorang ahli matematika menggunakan istilah “*in silico*” untuk mengkarakterisasi penelitian biologi yang sepenuhnya menggunakan komputer. Uji *in silico* telah menjadi metode yang digunakan untuk memulai penemuan senyawa obat baru dan untuk meningkatkan efisiensi dalam optimasi aktivitas senyawa induk. Salah satu contoh penggunaan emulasi *software* yaitu pada kasus wabah *coronavirus disease* (Covid-19) yang bergerak cepat dalam mendiagnosis dan menemukan obat yang tepat dalam pengendalian wabah tersebut. Aktivitas senyawa obat yang disintesis dapat diprediksi dari energi interaksi antara reseptor dan molekul ligan (Hardjono, 2013; Khaerunnisa *et al.*, 2020). Uji *in silico* menghasilkan nilai energi ikatan atau *rerank score* (RS). Energi ikatan menunjukkan jumlah energi yang dibutuhkan untuk membentuk ikatan antara ligan dengan reseptor. Semakin kecil energi ikatan berarti semakin stabil ikatan tersebut. Semakin stabil ikatan ligan dengan reseptor maka dapat diprediksikan bahwa aktivitasnya juga semakin besar (Hardjono, 2013).

Uji *in silico* salah satunya dilakukan dengan melakukan *molecular docking* kandidat senyawa obat dengan lokasi aksi yang dipilih. *Docking* merupakan upaya untuk menyelaraskan antara ligan, molekul kecil dengan reseptor dan molekul protein besar, dengan memperhatikan sifat keduanya satu sama lain (Hardjono *et al.*, 2016). *Molecular docking* adalah metode penentuan struktur kompleks protein yang dibentuk dari dua interaksi molekul seperti protein–ligan maupun protein–protein, secara komputasi. *Output* dari *molecular docking* yaitu memprediksikan struktur tiga dimensi (3D) kompleks yang diteliti (Khaerunnisa *et al.*, 2020). Di bidang pemodelan molekul, *molecular docking* adalah metode yang memprediksi orientasi yang disukai dari satu molekul ke waktu ketika terikatnya molekul satu sama lain untuk membentuk kompleks yang stabil (Monika *et al.*, 2010).

Molecular docking merupakan salah satu komputasi yang paling banyak digunakan dalam CADD (*computer-aided drug design*) untuk menentukan struktur kompleks yang dihasilkan oleh dua atau lebih molekul yang berinteraksi (Anwar *et al.*, 2021). Prosedur *docking* terdiri dari tiga komponen yang saling terkait, antara lain identifikasi situs pengikatan, algoritma pencarian untuk mengambil sampel ruang pencarian secara efektif (kumpulan kemungkinan posisi dan konformasi ligan pada permukaan protein), dan fungsi penilaian (Bharatam, 2008). *Molecular docking* memiliki berbagai kegunaan dan aplikasi dalam penemuan obat, termasuk studi struktur-aktivitas, menemukan prospek potensial dengan penyaringan virtual, menyediakan hipotesis pengikatan untuk memfasilitasi prediksi studi mutagenesis, dan sebagainya (Morris, 2008). *Molecular docking* juga digunakan untuk mengidentifikasi determinan struktural yang diperlukan untuk pengikatan reseptor dengan ligan yang efisien, dan pengembangan metode *docking* yang lebih akurat, telah meningkat pesat sejak pertama kali penampilan (Pinzi & Rastelli, 2019; Kitchen *et al.*, 2004).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan pada bulan Agustus 2022 – Januari 2023 di dua tempat, yaitu: (a) pengambilan sampel spons dilakukan di perairan Pulau Pahawang, Kecamatan Marga Punduh, Kabupaten Pesawaran, Lampung, Indonesia pada titik koordinat 5°39'58,8"S 105°14'11,1"E; (b) ekstraksi spons dilakukan di Laboratorium Oseanografi Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Analisis LC-HRMS dilakukan di Laboratorium Metabolomik Unit Laboratorium Riset Unggulan, Institut Pertanian Bogor. Uji *in silico* dinaungi oleh Bioinformatics Research Center-INBIO.

3.2 Alat dan Bahan

Berbagai alat dan bahan yang digunakan untuk penelitian disajikan pada Tabel 1 dan 2.

Tabel 1. Alat yang digunakan pada penelitian

No	Alat	Keterangan	Kegunaan
1	Alat dasar selam (Masker, snorkel, fin)	1 set	Pengambilan sampel spons.
2	Ziplock	2 pcs	Wadah sampel spons.
3	Label kertas	1 pcs	Label ziplock.
4	Cool box	1 unit	Wadah penyimpanan sampel spons.
5	Pisau	1 unit	Alat pemotong spons.
6	Blender	1 unit	Penghancur sampel spons.
7	Timbangan analitik	1 unit	Penimbang sampel spons.
8	Maserator (toples kaca)	3.000 mL	Maserasi spons.

Tabel 1. Alat yang digunakan pada penelitian (lanjutan)

No	Alat	Keterangan	Kegunaan
9	Kertas saring Whatman no.1	11 μ m	Penyaringan hasil ekstraksi spons.
10	Gelas ukur	250 mL	Wadah ekstrak spons.
11	Leica DMD 108	1 unit	Identifikasi mikroskopis.
12	Bandelin Sonorex Technik ultrasonic bath 40Khz	1 unit	Sonikasi ekstrak spons.
13	KNAPsAcK (www.knapsackfamily.com/ KNAPsAcK/)	Perangkat lunak berbasis situs	<i>Database</i> senyawa <i>Stylissa massa</i> .
14	Protein Plus PoseView (https://proteins.plus/)	Perangkat lunak berbasis situs	Visualisasi interaksi ligan-reseptor
15	SEA Search Server (https://sea.bkslab.org/)	Perangkat lunak berbasis situs	Prediksi protein target
16	PyMOL 2.5	Perangkat lunak (program)	Preparasi protein target.
17	PyRx 0.8	Perangkat lunak (program)	Preparasi senyawa dan penambatan molekul.
18	PubChem (https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/)	Situs <i>Database</i>	Struktur senyawa kimia.
19	UniProt (www.uniprot.org/)	Situs <i>Database</i>	<i>Database</i> protein.
20	<i>Therapeutic Target Database</i> (https://db.idrblab.net/ttd/)	Situs <i>Database</i>	Protein target kanker payudara.
21	Venny 2.1.0	Perangkat lunak berbasis situs	<i>Overlapping</i> data protein target.
22	CLC-Pred (www.way2drug.com/Cell-line/)	Perangkat lunak berbasis situs	Penapisan senyawa antikanker.
23	STRING-DB (string-db.org/)	Perangkat lunak berbasis situs	Prediksi protein target.

Tabel 2. Bahan yang digunakan pada penelitian

No	Bahan	Keterangan	Kegunaan
1	Metanol 96%	2.000 mL	Maserasi sampel spons.
2	Aquades	1.000 mL	Pembersihan sampel spons.
3	Data senyawa <i>Stylissa massa</i>	<i>Database</i>	Identifikasi senyawa.
4	Struktur senyawa	<i>File</i>	Preparasi ligan/senyawa.
5	<i>File</i> protein/reseptor	<i>File</i>	Preparasi reseptor.
6	Data bioaktivitas senyawa	<i>Database</i>	Prediksi bioaktivitas senyawa.

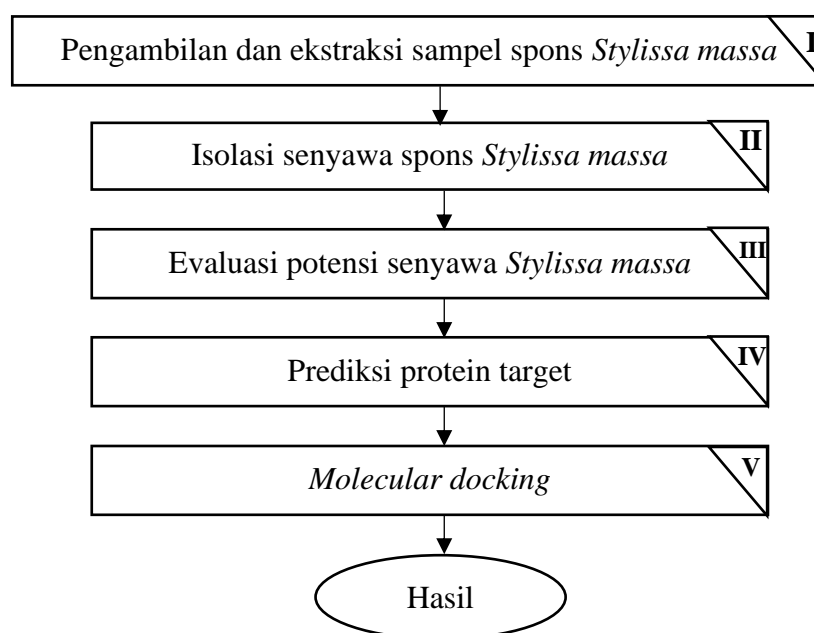
3.3 Metode Penelitian

Pendekatan yang digunakan yaitu pendekatan kuantitatif eksperimental. Penelitian *in silico* adalah salah satu pendekatan eksperimental selain *in vivo* dan *in vitro* (Khaerunnisa dkk, 2020). Penelitian eksperimen termasuk ke dalam penelitian

kuantitatif di mana peneliti memanipulasi satu atau lebih variabel bebas (*independent variable*), mengontrol variabel lain yang relevan, dan mengamati efek manipulasi pada variabel terikat (*dependent variable*) (Rukminingsih dkk., 2020). Menurut Creswell (2012), penelitian eksperimen merupakan penelitian untuk menguji suatu ide atau prosedur untuk menentukan apakah memengaruhi hasil atau variabel dependen dan digunakan untuk membangun kemungkinan sebab-akibat antara variabel bebas dan variabel terikat.

3.4 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian dipisahkan dalam lima proses utama. Prosedur penelitian disajikan pada Gambar 4.



Gambar 4. Prosedur penelitian secara umum

3.4.1. Pengambilan dan Ekstraksi Sampel Spons *Stylissa massa*

a) Pengambilan sampel spons *Stylissa massa*

Sampel spons diperoleh dari perairan Pulau Pahawang Kecamatan Marga Punduh, Kabupaten Pesawaran, Lampung. Spons diambil dengan menggunakan alat bantu

(masker, *snorkel*, *fins*, *ziplock*, dan pisau), kemudian spons dimasukkan ke dalam *ziplock*. *Ziplock* disimpan di dalam kotak dingin (*cool box*) yang berisi es batu dan tidak terkena matahari secara langsung. Sampel spons kemudian dibawa ke Laboratorium Oseanografi Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

b) Identifikasi sampel spons

Identifikasi dilakukan dengan cara menyamakan morfologi *Stylissa massa* dengan literatur dan identifikasi mikroskopis. Identifikasi mikroskopis dilakukan dengan cara memotong dan mencacah sampel. Sampel dimasukkan ke dalam tabung *Eppendorf*, kemudian ditetesi larutan pemutih dan didiamkan sekitar 2 menit. Selanjutnya sampel dibilas dengan etanol. Suspense spikula kemudian diamati di bawah jaringan pencitraan mikro digital Leica DMD 108 dan didokumentasikan. Sampel spons diidentifikasi sebagai spesies *Stylissa massa* berdasarkan morfologi dan spikulanya. Spons yang diperoleh berukuran besar, berwarna oranye dan menggelap saat kontak dengan udara atau saat terekspos, tekstur permukaan kasar, sangat berpori dapat dikompresi dan mudah untuk dirobek. Spons yang diperoleh memiliki panjang berukuran 34 cm, ditemukan pada kedalaman perairan kurang lebih 7 m, dengan kondisi lingkungan pH 7,7, salinitas 33 ppt, dan suhu 28⁰C. Sampel dapat dilihat pada Gambar 5.

Stylissa massa memiliki permukaan kasar kompresibel, padat, dan lunak. Berwarna kuning terang ketika di dalam air, menjadi kuning kusam dalam alkohol; berubah menjadi oranye saat terekspos. *Megascleres* (spikula) berbentuk *styles*, lurus hingga sedikit melengkung (Longakit *et al.*, 2005; Kelly & Bell, 2016). Pada pengamatan spikula, diidentifikasi bahwa sampel memiliki tipe spikula *styles* yang berbentuk lurus dengan satu ujung runcing dan ujung lainnya membulat. Spikula memanjang dengan permukaan halus. Hasil identifikasi spikula dapat dilihat pada Gambar 6.



(a) ketika di dalam air



(b) di laboratorium

Gambar 5. Sampel spons *Stylissa massa*

(a) bentuk tumpul pangkal atas



(b) bentuk runcing pangkal bawah



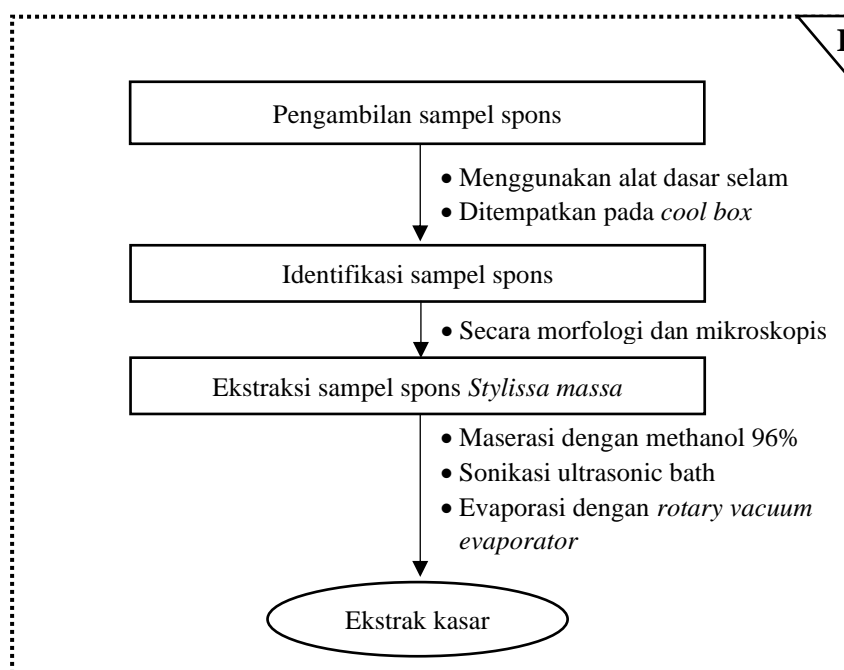
(c) bentuk spikula utuh

Gambar 6. Spikula *Stylissa massa* kategori *styles*

c) Ekstraksi sampel spons *Stylissa massa*

Sampel spons *Stylissa massa* sebanyak 500 g dipotong kecil kemudian ditambahkan metanol 96% sebanyak 500 mL, lalu dihancurkan dengan blender selama lima menit. Bubur sponge dipindahkan ke maserator toples kaca ukuran 3 liter, lalu ditambahkan metanol 96% sebanyak 1,5 liter. Sampel sponge direndam selama dua hari. Setelah dua hari perendamam spons, dilakukan sonikasi menggunakan *ultrasonic bath* pada frekuensi 40 kHz selama 60 menit, kemudian disaring menggunakan kertas saring Whatman no.1.

Selanjutnya filtrat ekstrak spons yang berbentuk cairan diuapkan menggunakan penguap putar vakum (*rotary vacuum evaporator*) pada suhu 35-40⁰C hingga didapatkan ekstrak kasar (*crude extract*) berbentuk cairan dan dituang ke dalam botol vial 250 mL. Ekstrak kasar ditimbang, lalu dihitung rendemennya (Cahyaningrum *et al.*, 2015; Handayani *et al.*, 2016; Verdiana *et al.*, 2018). Prosedur pengambilan dan ekstraksi sampel spons *Stylissa massa* ditunjukkan pada Gambar 7. Hasil ekstrak spons dengan metode maserasi menghasilkan 18 g ekstrak spons berbentuk pasta dengan rendemen = $\frac{18}{500} \times 100\% = 3,6 \%$.



Gambar 7. Pengambilan dan ekstraksi sampel spons *Stylissa massa*

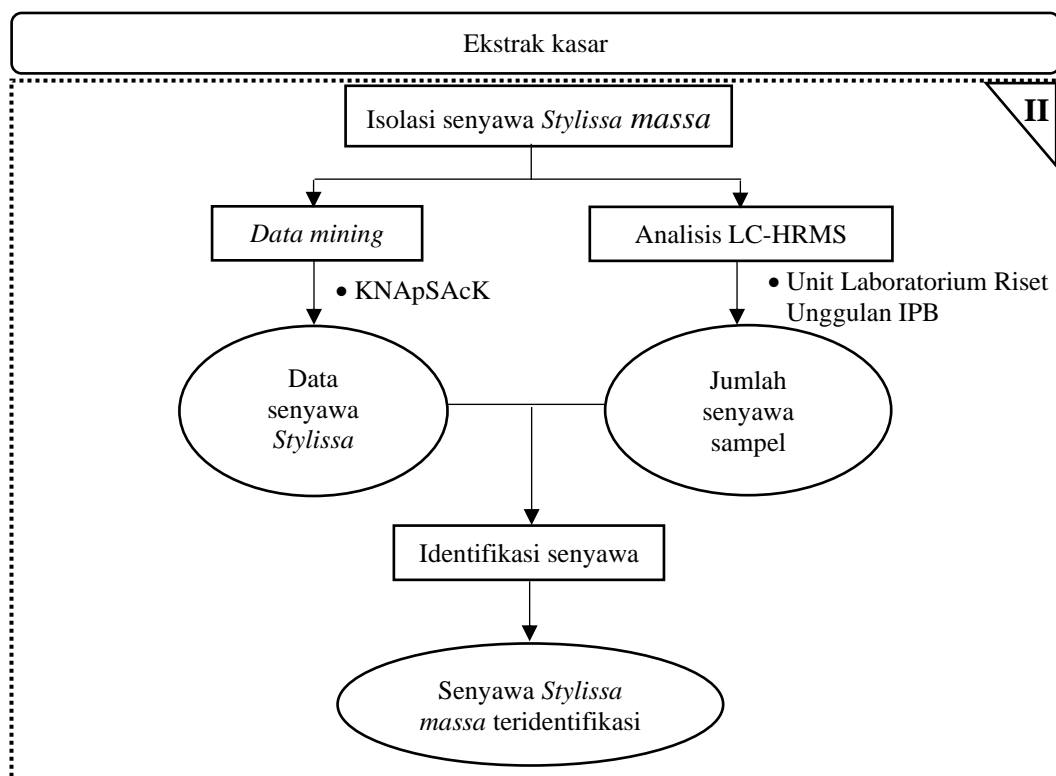
3.4.2 Isolasi Senyawa Aktif pada *Stylissa massa*

Isolasi senyawa aktif dilakukan dengan dua tahapan, yaitu *data mining* dan analisis kromatografi. *Data mining* atau penggalian data senyawa aktif *Stylissa massa* dilakukan dengan mengakses *database* dari situs KNApSAcK. Situs KNApSAcK merupakan proyek *database* untuk menganalisis kumpulan data spektrum massa dan mengambil informasi tentang metabolit dengan memasukkan nama metabolit, nama senyawa organisme, berat molekul atau rumus molekul. Daftar metabolit yang terkait dengan kelas taksonomi dapat diperoleh dengan pencarian nama taksonomi (Afendi *et al.*, 2012). Penggalian data bertujuan untuk memperoleh daftar senyawa yang pernah ditemui pada spesies spons *Stylissa massa* sehingga dapat menjadi bahan identifikasi tingkat kesesuaian untuk analisis senyawa ekstrak spons *Stylissa massa*. Prosedur isolasi senyawa *Stylissa massa* ditunjukkan pada Gambar 8.

Analisis senyawa ekstrak spons menggunakan LC-HRMS di Laboratorium Metabolomik, Unit Laboratorium Riset Unggulan, Institut Pertanian Bogor. Analisis dilakukan dengan cara melarutkan 5 mg sampel dalam 1 mL MeOH kemudian di-filter dengan membran PTFE 0.2 nm dan klasifikasi metode LC-HRMS sebagai berikut:

- a. LC-MS UHPLC *Vanquish Tandem Q Exactive Plus Orbitrap* HRMS
Thermo Scientific
- b. Kolom: *Accucore C18*, 100 x 2,1 mm, 1,5 μm (*Thermo Scientific*)
- c. Laju alir: 0,2 mL/min
- d. Eluen: H₂O+0,1% asam format (A) dan asetonitril+0,1 % asam format (B)
- e. Gradien: 0-1 menit (5% B), 1-25 menit (5-95% B), 25-28 menit (95%B),
28-30 menit (5%B)
- f. Suhu kolom: 30°C
- g. Volume injeksi: 2 μL
- h. *Mass range*: 100-1.500 m/z.
- i. Mode ionisasi: *negative*

LC-HRMS atau *liquid chromatography-high-resolution mass spectrometry* (kromatografi cair-spektrometri massa beresolusi tinggi) merupakan metode yang berpotensi untuk mengukur senyawa tertentu melalui analisis target dan memantau bahan organik yang tidak diketahui melalui penyaringan non target (Xue *et al.*, 2020). LC-HRMS telah semakin banyak digunakan untuk penapisan kontaminan non target dalam sampel lingkungan (Zedda & Zwiener, 2012). LC-HRMS menghasilkan informasi struktural yang berguna untuk penemuan dan eksplorasi bahan kimia dari berbagai produk alami. Penggunaan LC-HRMS dengan kondisi yang telah dioptimalkan dan efisien wajib dilakukan untuk mencapai identifikasi yang benar dari makanan dan produk alami tanaman dalam kompleksitas ekstrak alami (Aydogan, 2020).

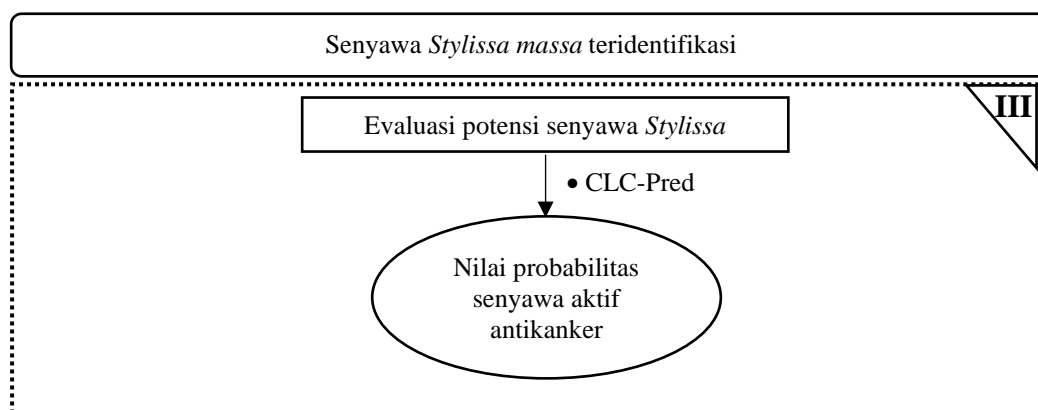


Gambar 8. Isolasi senyawa *Stylistia massa*

3.4.3 Evaluasi Potensi Senyawa *Stylistia massa*

Tahapan evaluasi potensi senyawa yaitu penapisan aktivitas senyawa menggunakan program CLC-Pred (*cell line cytotoxicity predictor*). CLC-Pred adalah

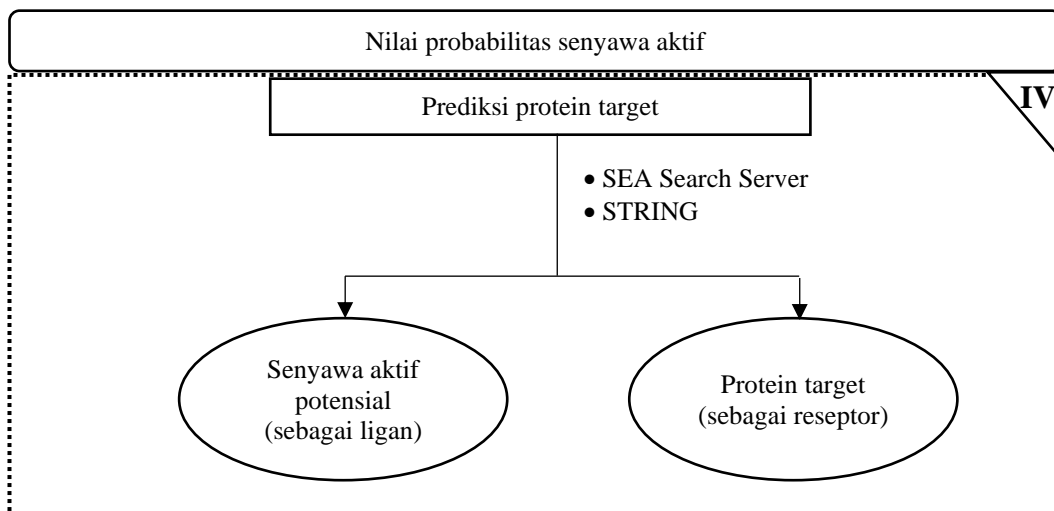
layanan *web* untuk prediksi *in silico* efek sitotoksik senyawa kimia dalam sel non-transformasi dan sel kanker berdasarkan formula struktural. CLC-Pred memberikan prediksi sitotoksitas suatu senyawa kimia untuk menilai relevansi inklusi zat dalam penyaringan eksperimental (Lagunin *et al.*, 2018). Prosedur evaluasi potensi senyawa *Stylissa massa* ditunjukkan pada Gambar 9.



Gambar 9. Evaluasi potensi senyawa *Stylissa massa*

3.4.4 Prediksi Protein Target

Tahapan selanjutnya yaitu prediksi molekuler. Prediksi molekuler dilakukan untuk menentukan cara kerja senyawa bioaktif yang sudah didapatkan dengan melakukan prediksi protein target. Metode prediksi protein target yaitu mengklasifikasikan senyawa dan pasangan biomakromolekul sebagai pasangan yang berinteraksi (positif) atau tidak berinteraksi (negatif) (Mathai *et al.*, 2020). Pada metode prediksi target digunakan SEA Search Server. SEA Search Server adalah program untuk menghubungkan protein berdasarkan persamaan kimia di antara ligan. SEA dapat mengungkapkan kesamaan yang diharapkan dan tidak diharapkan yang dapat diuji dengan memeriksa aktivitas di luar target dari ligan (Keiser *et al.*, 2007). Selanjutnya dilakukan analisis interaksi protein-protein menggunakan STRING yang bertujuan untuk mengetahui bagaimana interaksi antar protein dari sejumlah target yang telah diperoleh. Prosedur prediksi protein target ditunjukkan pada Gambar 10.



Gambar 10. Prediksi protein target

3.4.5 Molecular Docking

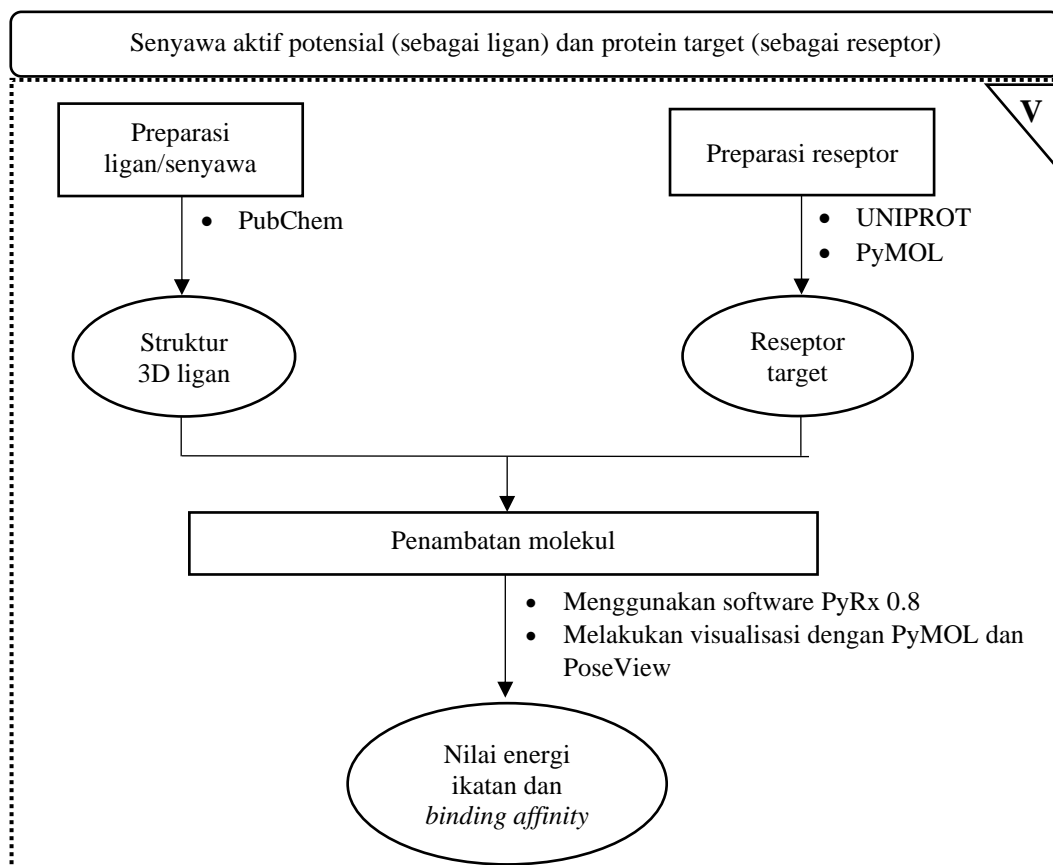
Pada prosedur *molecular docking* terdapat tiga tahapan, yaitu preparasi ligan (1); preparasi reseptor (2) dan penambatan molekul (3). Prosedur *molecular docking* ditunjukkan pada Gambar 11.

3.4.5.1 Preparasi Ligan

Preparasi ligan dilakukan menggunakan prosedur pencarian struktur 3D senyawa kimia dengan PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>). Senyawa yang telah didapatkan dari hasil analisis LC-HRMS, dituliskan pada mesin pencarian di situs PubChem. Kemudian diunduh file konformasi 3D senyawa dengan format *.sdf.

3.4.5.2 Preparasi Reseptor

Penapisan reseptor diawali dengan mengunduh file 3D target protein melalui situs *database* UniProt. Reseptor diunduh dengan format PDB (*.pdb). Kemudian file reseptor dibuka pada perangkat lunak PyMOL untuk dihilangkan molekul airnya dan diambil ligan asli yang ada. Ligan asli dipilih dan disimpan dalam format *.pdb sebagai *ligand control* untuk proses *docking*. Reseptor disimpan dalam format *.pdb.



Gambar 11. Prosedur *molecular docking*

3.4.5.3 Penambatan Molekul

Proses penambatan molekul dilakukan menggunakan software PyRx 0.8 dengan memilih fitur *vina wizard*. Proses penambatan molekul dilakukan dengan menginput reseptor dan ligan. Kemudian, menginput konformasi 3D senyawa menggunakan fitur *open babel* dan dilakukan minimalisasi senyawa. Kemudian dilakukan penentuan sisi pengikatan dengan menyesuaikan posisi *grid box* (Ramadhani dkk., 2021). Analisis hasil penambatan molekul dilakukan dengan memilih konformasi ligan yang memiliki *binding affinity* yang paling rendah. Kompleks ligan-reseptor yang terbentuk divisualisasikan dengan bantuan perangkat lunak PyMOL dan situs PoseView. Hasil *docking* dilihat dengan nilai *binding affinity*. Semakin rendah afinitas atau yang paling negatif menunjukkan interaksi obat-reseptor semakin stabil dan diprediksi mempunyai aktivitas biologi semakin tinggi (Rena *et al.*, 2022).

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan pemaparan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa:

1. Spons *Stylissa massa* mengandung setidaknya 12 senyawa bioaktif anti-kanker dan 2 di antaranya (asam flufenamat dan *hymenamide C*) memiliki aktivitas antikanker payudara.
2. Senyawa asam flufenamat diprediksi memiliki mekanisme molekuler sebagai inhibitor pada protein target kanker payudara CSF1R, PLK4, MKNK2, ABL1. Senyawa *hymenamide C* diprediksi memiliki mekanisme molekuler sebagai inhibitor pada protein target kanker payudara GRB2.

5.2 Saran

Setelah dilakukan identifikasi dan prediksi molekuler kanker payudara dari senyawa aktif spons *Stylissa massa*, disarankan:

1. Perlu adanya penelitian lanjutan dengan metode *molecular dynamics simulation* untuk mengetahui stabilitas dan kajian farmakokinetik untuk toksisitas dari senyawa hasil *docking*.
2. Perlu dilakukan uji eksperimental secara *in vivo* maupun *in vitro* terhadap potensi senyawa dari spons *Stylissa massa*.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, S., Kusuma, W. A., & Wijaya, S. H. 2022. Prediksi protein-protein interaction berbasis sekuens protein menggunakan fitur *autocorrelation* dan *machine learning*. *Jurnal Teknologi dan Sistem Komputer*. 10(1): 1–11.
- Afendi, F. M., Okada, T., Yamazaki, M., Morita A. H., Nakamura, Y., Nakamura, K., Ikeda, S., Takahashi, H, Md., Amin, A. U., Latifah., Darusman., Saito, K., & Kanaya, S. 2012. KNApSACk family databases: integrated metabolite-plant species databases for multifaceted plant research. *Plant Cell Physiol*. 53(e1) : 1–12.
- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., & Walter, P. 2014. *Molecular Biology of the Cell: 6th Edition*. Garland Science. New York. 1464 hlm
- American Cancer Society. 2021. *About Breast Cancer*. Cancer, org. Kennesaw, USA. [cancer.org/content/dam/CRC/PDF/Public/8577.00.pdf](https://www.cancer.org/content/dam/CRC/PDF/Public/8577.00.pdf). Diakses pada 27 Januari 2022.
- Amir, I., & Budiyo, A. 1996. Mengenal spons laut (Demospongiae) secara umum. *Oseana*. 21(2): 15–31.
- Angela, A., & Marzuki, I. 2021. Kapasitas bioadsorpsi bakteri simbiosis spons laut terhadap kontaminan logam berat. *KOVALEN: Jurnal Riset Kimia*. 7(1): 12–22.
- Anggorowati, L. 2013. Faktor risiko kanker payudara wanita. *Kemas: Jurnal Kesehatan Masyarakat*. 8(2): 121–126.
- Anwar, T., Kumar, P., Khan, A. U. 2021. Modern tools and techniques in computer-aided drug design. In: *Molecular docking for Computer-Aided Drug Design* (Coumar, M. S., eds). Academic Press. Cambridge. pp 1–30.
- Asran., Yusnaini., & Rahmadani. 2018. Pengaruh kedalaman terhadap pertumbuhan spons *Clahtria reinwardtii* yang dipelihara di permukaan kurungan dengan metode gantung. *Media Akuatika*. 3(4): 776–786.

- Attie, A. D., & Raines, R. T. 1995. Analysis of receptor–ligand interactions. *Journal of Chemical Education*. 72(2): 119–124.
- Aydođan, C. 2020. Recent advances and applications in LC-HRMS for food and plant natural products: a critical review. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 412(9): 1973–1991.
- Ayudhya, C, N, C., & Tipmanee, G, P, V. 2022. Potential stereoselective binding of trans-(±)-kusunokinin and cis-(±)-kusunokinin isomers to CSF1R. *Molecules*. 27(13): 4194–4218.
- Bashari, M. H., Fadhil, M., Aulia, Y., Sari, A. K., Putri, T., Qomarilla, N., Atmaja, H., Sudji, I. R., Ariyanto, E. F., Indrati, A. R., & Rohmawaty, E. 2022. The ethyl acetate fraction of marine sponge *Stylissa carteri* induces breast cancer cell death via upregulation of MCL-1s: an in vitro study. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 23(5): 1653–1660.
- Beepat, S. S., Appadoo, C., Marie, D. E. P., Paula, J., & Sivakumar, K. 2013. Distribution and abundance of the sponge *Spherospongia vagabunda* (Ridley, 1884) (Phylum: Porifera, Class: Demospongiae) in a shallow Mauritian Lagoon. *Western Indian Ocean Journal of Marine Science*. 12(1): 15–23.
- Bell, J. J. 2008. The functional roles of marine sponges. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*. 79: 341–353.
- Bharatam, P. V., Khanna, S., & Francis, S. M. 2008. *Modeling and informatics in drug design*. In: *Preclinical Development Handbook*. John Wiley & Sons, Inc. New Jersey. pp 1–45.
- Bramhachari, P.V., Ehrlich, H., & Pallela, R. 2016. *Introduction to the global scenario of marine sponge Research*. In: *Marine Sponges: Chemicobiological and Biomedical Applications* (Pallela., H. Ehrlich., eds.). Springer. India. pp 1–23.
- Brusca, R. C., & Brusca, G. J. 1990. *Invertebrates*. Sinauer Associates, inc Publishers. Massachusetts. 1104 hlm.
- Budhy, T. I. 2019. *Mengapa Terjadi Kanker*. Airlangga University Press. Surabaya. 90 hlm.
- Cahyaningrum, P. L., Swantara, I. M. D., & Mahardika, I. G. 2015. Toksisitas isolat dari ekstrak metanol spons *Clathria (Thalysias)* sp terhadap larva *Artemia salina* l. *Cakra Kimia (Indonesian E-Journal of Applied Chemistry)*. 3(2): 50–55.
- Campbell, N., & Reece, J. 2005. *Invertebrates*. Pearson Education, Inc. publishing as Benjamin Cummings. San Francisco. 200 hlm.

- Chanthathamrongsiri, N. 2014. *Bioactive Constituents from The Sponge Stylissa cf. massa and The Soft Coral Eleutherobia sp.* [Thesis]. Prince of Songkla University. Hat Yai.
- Chrestensen, C. A., Shuman, J. K., Eschenroeder, A., Worthington, M., Gram, H., & Sturgill, T. W. 2007. MNK1 and MNK2 regulation in HER2-overexpressing breast cancer lines. *Journal of Biological Chemistry*. 282(7): 4243–4252.
- Chromatography Today. 2014. *What is Retention Time?*. Chromatography Today. St. Albans. Diakses pada 1 Februari 2023.
- Creswell, J. W. 2012. *Research Design Pendekatan Kualitatif, Kuantitatif, dan Mixed*. Pustaka Pelajar. Yogyakarta. 408 hlm.
- Dahiya, R., Pathak¹, D., Himaja, M., & Bhatt, S. 2006. First total synthesis and biological screening of hymenamides. *Acta Pharmaceutica*. 56(2006): 399–415.
- de Voogd, N.J., Alvarez, B., Boury-Esnault, N., Carballo, J.L., Cárdenas, P., Díaz, M.-C., Dohrmann, M., Downey, R., Hajdu, E., Hooper, J.N.A., Kelly, M., Klautau, M., & Manconi, R. 2022. World Porifera Database. *Stylissa massa* (Carter, 1887). <https://www.marinespecies.org/porifera/porifera.php?p=taxdetails&id=165711>. Diakses pada tanggal 18 Januari 2023
- Erpenbeck D., Breeuwer J.A.J., Parra-Velandia, F.J., & van Soest, R.W.M. 2006. Speculation with spiculation? three independent gene fragments and biochemical characters versus morphology in demosponge higher classification. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 38: 293–305.
- Faroby, M. H. Z. A., Fadhillah, H. N., & Sembiring, F. H. 2022. Identifikasi interaksi protein-protein meningitis menggunakan ClusterONE dan analisis jaringan. *Journal of Advances in Information and Industrial Technology*. 4(1): 17–28.
- Fatchiyah. 2015. *Prinsip Dasar Bioinformatika*. Universitas Brawijaya Press. Malang. 126 hlm.
- Filimonov D.A., Lagunin A.A., Glorizova T.A., Rudik A.V., Druzhilovskii D.S., Pogodin P.V., & Poroikov V.V. 2014. Prediction of the biological activity spectra of organic compounds using the PASS online web resource. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*. 50(3): 444–457.
- Fouad, M. A., Debbab, A., Wray, V., Müller, W. E. G., & Proksch, P. 2012. New bioactive alkaloids from the marine sponge *Stylissa sp.* *Tetrahedron*. 68(49): 10176–10179.

- Freeman, C. 2018. Spongid Fauna. In: *Marine Biodiversity of Myeik Archipelago: Survey Results 2013-2017 and Conservation Recommendations* (Howard, R., ed.). Fauna & Flora International. Thanintharyi. pp 74–78.
- Garvey, D. R., Chhabra, G., Ndiaye, M. A., & Ahmad, N. 2021. Role of polo-like kinase 4 (PLK4) in Epithelial cancers and recent progress in its small molecule targeting for cancer management. *Molecular Cancer Therapeutics*. 20(4): 632–640.
- Gebregewergis, A. 2020. Levels of selected metals in white teff grain samples collected from there different areas of Ethiopia by using Microwave Plasma Atomic Emission Spectroscopy (MP-AES). *International Journal of Novel Research in Physics Chemistry & Mathematics*. 7(1): 13–24.
- Global Cancer Observatory. 2020. *Cancer Fact Sheets: All Cancer. IARC WHO. France*. gco.iarc.fr/today/data/factsheets/cancers/39-all-cancers-fact-sheet.pdf. Diakses pada 21 Januari 2022.
- Guha R. 2013. On exploring structure-activity relationships. *Methods in Molecular Biology*. 993: 81–94.
- Hadi, T. A. 2018. Peranan ekologis spons pada ekosistem terumbu karang. *Oseana*. 43(1): 53–62.
- Haedar., Sadarun, B., & Palupi, R. D. 2016. Potensi keanekaragaman jenis dan sebaran spons di perairan Pulau Saponda laut Kabupaten Konawe. *Sapa Laut*. 1(1): 1–9.
- Handayani, H., Sriherfyna, F.H., Veteran, J., & Korespodensi, P. 2016. Ekstraksi antioksidan daun sirsak metode ultrasonic bath (kajian rasio bahan: pelarut dan lama ekstraksi). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 4(1): 262–272.
- Hardjono, S. 2013. Sintesis dan uji aktivitas antikanker senyawa 1-(2-Klorobenzoiloksi)urea dan 1-(4-klorobenzoiloksi)urea. *Berkala Ilmiah Kimia Farmasi*. 2(1): 16–20.
- Hardjono, S., Siswodihardjo, S., Pramono, P., & Darmanto, W. 2016. Quantitative structure-cytotoxic activity relationship 1-(benzoyloxy)urea and its derivative. *Current drug discovery technologies*. 13: 101–108.
- He, Q., Miao, S., Ni, N., Man, Y., & Gong, K. 2020. A review of the secondary metabolites from the marine sponges of the genus *Aaptos*. *Natural Product Communications*. 15(9): 1–12.
- Hero, S. 2021. Faktor risiko kanker payudara. *Jurnal Medika Utama*. 3: 1533–1537

- Hooper, J. N. A. 2003. *'Sponguide': Guide to Sponge Collection and Identification*. Kluwer Academic. New York. 266hlm.
- Huda, B. H. A., Sugihartini, N., Susanti, H., & Utami, D. 2020. Docking molekuler senyawa β -karoten dalam tanaman kelor (*Moringa oleifera*,L) sebagai penghambat enzim tirosinase dengan Autodock–Vina. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*. 3(2): 230–240.
- Hussain, A., Kondracki, M. L. B., Majeed, M., Ibrahim, M., Imran, M., Wen, X. Y., Ahmed, I., Altaf, A. A., Khalil, A.A., *et al.* 2023. Marine life as a source for breast cancer treatment: A comprehensive review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 159: 114165–114204.
- Ikawati, Z. 2018. *Farmakologi Molekuler: Target Aksi Obat dan Mekanisme Molekulernya*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 190 hlm.
- Junhyuk, A., Woongil, H., Kyungwon, J., & Jaewoon, N. 2019. Preparation and characterization of flufenamic acid-loaded chitosan nanoparticle for anticancer effect. *Abstracts of Research Papers of the Korean Society of Industrial Chemistry*. 2019(0): 207–207.
- Keiser, M. J., Roth, B. L., Armbruster, B. N., Ernsberger, P., Irwin, J. J., & Shoichet, B. K. 2007. Relating protein pharmacology by ligand chemistry. *Nature Biotechnology*. 25(2): 197–206.
- Kelly, M., & Bell, L. J. 2016. *Splendid Sponges of Palau: Version 1*. National Institute of Water and Atmospheric Research. Auckland. 70 hlm.
- Khaerunnisa, S., Suhartati., & Awaluddin, R. 2020. *Penelitian in Silico untuk Pemula*. Airlangga University Press. Surabaya. 112 hlm.
- Kitchen, D.B., Decornez, H., Furr, J.R., & Bajorath, J. 2004. Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications. *Nature Reviews Drug Discovery*. 3: 935–949.
- Kurniati, Y. P., & Romadhon, Y. A. 2021. Analisis faktor risiko fenotipe molekuler ER, PR dan HER2 pada kanker payudara di Surakarta. *Proceeding of The 13th University Research Colloquium*. 2021: 276–282.
- Lagunin A.A., Dubovskaja V.I., Rudik A.V., Pogodin P.V., Druzhilovskiy D.S., Gloriovova T.A., Filimonov D.A., Sastry G.N., & Poroikov V.V. 2018. CLC-Pred: a freely available web-service for in silico prediction of human cell line cytotoxicity for drug-like compounds. *PLOS One*. 13(1): e0191838–0191851.

- Leal, M. C., Puga, J., Serodio, J., Gomes, N. C. M., Calado, R. 2012. Trends in the discovery of new marine natural products from invertebrates over the last two decades? Where and what are we bioprospecting?. *PLOS ONE*. 1(1): 1–16.
- Lee, R. J., Vallow, L. A., McLaughlin, S. A., Tzou, K. S., Hines, S. L., & Peterson, J. L. 2012. Ductal carcinoma in situ of the breast. *International Journal of Surgical Oncology*. 2012: 1–12.
- Lestari, T. 2015. Studi interaksi senyawa turunan 1,3-dibenzoiltiourea sebagai ribonukleotida reduktase inhibitor. *Jurnal Farmasi Indonesia*. 7(3): 163–169.
- Li, Z.Y., Yin, Y. F., Guo, Y., Li, H., Xu, M. Qi., *et al.* 2020. Enhancing anti-tumor activity of sorafenib mesoporous silica nanomatrix in metastatic breast tumor and hepatocellular carcinoma via the co-administration with Asam flufenamat. *International Journal of Nanomedicine*. 15: 1809–1821.
- Liu, H., & Muttenthaler, M. 2022. High oxytocin receptor expression linked to increased cell migration and reduced survival in patients with triple-negative breast cancer. *Biomedicines*. 10: 1595–1615.
- LUNGevity. 2016. *Lung Adenocarcinoma*. LUNGevity Foundation. Chicago. 56 hlm.
- Longakit, M. B. A., Sotto, F.B., & Kelly, M. 2005. The shallow water marine sponges (Porifera) of Cebu, Philippines. *Science Diliman*. 17(2): 52–74.
- Lowe, B., Venkatesan, J., Ehrlich, H., & Kim, S. K. 2016. Global Constraints, Prospects, and Perspectives of Marine Sponge Research. In: *Marine Sponges: Chemicobiological and Biomedical Applications* (Pallela., H. Ehrlich., eds.). Springer. India. pp 25–35.
- Maharani, S. 2012. *KANKER: Mengenal 13 Jenis Kanker dan Pengobatannya*. Katahati. Jogjakarta. 188 hlm.
- Mahdiyah, U. 2017. Pencarian rongga berpotensi binding site pada protein dengan menggunakan *support vector machine* (SVM). *Journal Mathematics and Its Application*. 14(2): 89–10.
- Mannelli, D. C. L., Esposito, P. F., Sangiovanni, E., Pagano, E., Mannucci, C., Polini, B., Ghelardini, C., Dell’agli, M., Izzo, A.A., Calapai, G., *et al.* 2021. Pharmacological activities of extracts and compounds isolated from Mediterranean sponge sources. *Pharmaceuticals*. 14(12): 1329.

- Mardianingrum, R., Bachtiar, K., Susanti, S., Aas, N. A., & Ruswanto, R. 2021. Studi *in silico* senyawa 1,4-naphthalenedione-2-ethyl-3-hydroxy sebagai antiinflamasi dan antikanker payudara. *Alchemy Jurnal Penelitian Kimia*. 17(1): 83–95.
- Marzuki, I. 2018. *Eksplorasi Spons Indonesia; Seputar Kepulauan Spermonde*. Nas Media Pustaka. Makassar. 198 hlm.
- Mathai, N., Chen, Y., & Kirchmair, J. 2020. Validation strategies for target prediction methods. *Briefings in Bioinformatics*. 21(3) : 791-802.
- Mering, C. V., Huynen, M., Jaeggi, D., Schmidt, S., Bork, P., & Snel, B. 2003. STRING: a database of predicted functional associations between proteins, *Nucleic Acids Research*. 31(1): 258–261.
- Monika, G., Punam, G., Sarbjot, S., & Gupta, G. D. 2010. An overview on molecular docking. *International Journal of Drug Development & Research*. 2(2): 219–231.
- Morris, G. M., & Lim-Wilby, M. 2008. Molecular docking. In: *Molecular Modeling of Proteins* (Kukol A., eds). Methods Molecular Biology™ 443. Humana Press. New Jersey. pp 365–382.
- Motomasa, K. 1998. Search for Biologically Active Substances from Marine Sponges. In: *Prosiding Seminar Bioteknologi I* (R. R. eds.). Puslit Oseanologi LIPI. Jakarta. pp 27–33.
- Nagar, B., Hantschel, O., Seeliger, M., Davies, J. M., Weis, W. I., Superti, F. G., & Kuriyan, J. 2006. Organization of the SH3-SH2 unit in active and inactive forms of the c-Abl tyrosine kinase. *Molecular Cell*. 21(6): 787–798.
- Napolitano, A., Bruno, I., Rovero, P., Lucas, R., Payà, P. M., Gomez, P. L., & Riccio, R. 2002. Synthesis and biological properties of the seven alanine-modified analogues of the marine cyclopeptide *hymenamide C*. *Journal of Peptide Science*. 8: 407-417.
- Oyemitan, I. A. 2017. African medicinal spices of genus *Piper*. *Medicinal Spices and Vegetables from Africa*. 581–597.
- Pabel, C. T., Vater, J., Wilde, C., Franke, P., Hofemeister, J., Adler, B., Pallela, R., Koigoora, S., Gunda, V. G., Sunkara, M. S., & Janapala, V. R. 2011. Comparative morphometry, biochemical and elemental composition of three marine sponges (*petrosiidae*) from Gulf of Mannar, India. *Chem Speciation Bioavailability*. 23(1): 16–23.
- Penta, S. 2016. Introduction to Coumarin and SAR. In: *Advances in Structure and Activity Relationship of Coumarin Derivatives*. Academic Press. India. pp 1–8.

- Phan, J. J., Shi, Z. D., Burke, T. R., & Waugh, D. S. 2005. Crystal Structures of a high-affinity macrocyclic peptide mimetic in complex with the Grb2 SH2 domain. *Journal of Molecular Biology*. 353(1): 104–115.
- Pinzi, L., & Rastelli, G. 2019. Molecular docking: shifting paradigms in drug discovery. *International Journal of Molecular Sciences*. 20: 4331–4354.
- Pramita, D. R., & Subagiarta, I. M. 2017. *Prinsip Dasar Farmakologi*. RSUP Sanglah Denpasar. Denpasar. 87 hlm.
- Presson, J., Pardosi, L., Mamangkey, J., & Hanas, D. F. 2022. Isolation of symbiont bacteria of *Stylissa massa* as potential candidates for producing antimicrobial compounds from the Waters of Rote Island, East Nusa Tenggara, Indonesia. *International Journal of Aquatic Biology*. 10(6): 451–459.
- Qiu, W., Plotnikova, O., Feher, M., Awrey, D.E., & Chirgadze, N.Y. 2014. Crystal Structure of PLK4 Kinase with an inhibitor: 400631 ((1r,2s)-2-{3-[(e)-2-{4-[(dimethylamino)methyl]phenyl}ethenyl]-2h-indazol-6-yl]-5'-methoxyspiro[cyclopropane-1,3'-indol]-2'(1'h)-one). *Nature Structural Biology*. 10: 980–980.
- Rajendran, I. 2016. Bioactive potential of sponge secondary metabolites. In: *Marine Sponges: Chemicobiological and Biomedical Applications* (Pallela., H. Ehrlich., eds.). Springer. India. pp 143–166.
- Ramadhani, A. N., Wahyudi, T. S., & Lestari, E. D. P. 2021. *Langkah Langkah Drug Discovery Menggunakan Molecular Docking*. Global Science. Malang. 59 hlm.
- Redmond, N. E., Morrow, C. C., Thacker, R. W., Diaz, M. C., Boury-Esnault, N., Cárdenas, P., Hajdu, E., *et al.* 2013. Phylogeny and systematics of demospongiae in light of new small-subunit ribosomal DNA (18S) sequences. *Integrative and Comparative Biology*. 53(3): 388–415.
- Reich, S. H., Sprengeler, P. A., Chiang, G.G., Appleman, J. R., Chen, J., *et al.* 2018. Structure-based design of pyridone–aminal eFT508 targeting dys-regulated translation by selective mitogen-activated protein kinase interacting kinases 1 and 2 (mnk1/2) inhibition. *Journal of Medicinal Chemistry*. 61(8): 3516–3540.
- Rena, S. R., Nurhidayah., Rustan. 2022. Analisis *molecular docking* senyawa *garcinia mangostana l* sebagai kandidat anti SARS-CoV-2. *Jurnal fisika Unand*. 11(1): 82–88.
- Rukminingsih., Adnan, G., & Latief, M. A. 2020. *Metode Penelitian Pendidikan; Penelitian Kuantitatif, Penelitian Kualitatif, Penelitian Tindakan Kelas*. Erhaka Utama. Yogyakarta. 171 hlm.

- Ruppert, E. E., & Barnes, R. D. 1994. *Invertebrate Zoology* (6th ed). Saunders College Publishing. Philadelphia. 1102 hlm.
- Saputri, K. E., Nurul F., Erwinda, K., Dedy, P., & Broto, S. 2016. *Docking molekular potensi anti diabetes melitus tipe 2 turunan zerumbon sebagai inhibitor aldosa reduktase dengan Autodock-Vina*. *Chimica et Natura Acta*. 4(1): 16–20.
- Sari, I. W., Junaidin., & Pratiwi, D. 2020. Studi molecular docking senyawa flavonoid herba kumis kucing (*Orthosiphon stamineus B.*) pada reseptor α -glukosidase sebagai antidiabetes tipe 2. *Jurnal Farmagazine*. 7(2): 54-60.
- Shiki, Y., Onai, M., Sugiyama, D., Osada, S., Fujita, I., & Kodama, H. 2009. Synthesis and biological activities of cyclic peptide, hymenamides analogs. In: *Peptides for Youth: Advances in Experimental Medicine and Biology, Volume 611* (Valle, S.D., Escher, E., & Lubell, W.D., eds.). Springer. New York, Amerika Serikat. pp 323–324.
- Smith, B. D., Kaufman, M. D., Wise, S. C., Ahn, Y. M., Caldwell, T. M., Leary, C. B., Lu, W. P., Tan, G., Vogeti, L., Vogeti, S., Wilky, B. A., Davis, L. E., Sharma, M., Ruiz-Soto, R., & Flynn, D. L. 2021. Vimseltinib: a precision CSF1R therapy for tenosynovial giant cell tumors and diseases promoted by macrophages. *Molecular Cancer Therapeutics*. 20(11): 2098–2109.
- Stierand, K., & Rarey, M. 2010. Drawing the PDB - protein-ligand complexes in two dimensions. *Medicinal Chemistry Letters*. 1(9): 540–545.
- Stopeck, A. T., Downey, L., Lang, J., Thompson, P. A., Harris, J., Gohel, M. S., *et al.* 2012. Caring for the breast cancer survivor: a guide for primary care physicians. *The American Journal of Medicine*. 123(6): 489–495.
- Sun, J., Cheng, W., de Voogd, N. J., Proksch, P., & Lin, W. 2016. Stylistatins B–D, cycloheptapeptides from the marine sponge *Stylissa massa*. *Tetrahedron Letters*. 57(38): 4288–4292.
- Suryani, Y. 2020 *Kanker Payudara*. PT. Freeline Cipta Granesia. Padang. 64 hlm.
- Suvannang, N., Nantasenamat, C., Isarankura, N. A. C., & Prachayasittikul, V. 2011. Molecular docking of aromatase inhibitors. *Molecules*. 16(5): 3597–3617.
- Suzuki, T., Miki, Y., Nakamura, Y., Moriya, T., Ito, K., Ohuchi, N., *et al.* 2005. Sex steroid producing enzymes in human breast cancer. *Endocrine-Related Cancer*. 12: 701–20.

- Szklarczyk, D., Gable, A. L., Lyon, D., Junge, A., Wyder, S., Huerta-Cepas, J., & Jensen, L. J. 2019. STRING v11: protein–protein association networks with increased coverage, supporting functional discovery in genome-wide experimental datasets. *Nucleic Acids Research*. 47(D1): D607–D613.
- Thanati, F., Karatzas, E., Baltoumas, F.A.; Stravopodis, D.J., Eliopoulos, A.G., & Pavlopoulos, G.A. 2021. FLAME: A web tool for functional and literature enrichment analysis of multiple gene lists. *Biology*. 2021(10): 665–677.
- Umami, S. S. 2019. Karakterisasi bakteri simbiosis spons penghasil enzim protease dari perairan Sekotong Lombok Barat. *Celebes Biodiversitas Jurnal Sains dan Pendidikan Biologi*. 2(2): 22–31.
- United Nations. 2014. *Unlocking The Full Potential of The Blue Economy: Are African Small Island Developing States Ready to Embrace The Opportunities?*. Economic Commission for Africa. Addis Ababa. 44 hlm.
- Van Soest, R. W., Boury-Esnault, N., Vacelet, J., Dohrmann, M., Erpenbeck, D., De Voogd, N., & Hooper, J. N. 2012. Global diversity of sponges (Porifera). *PLOS ONE*. 7(4): e35105–35128.
- Venkateswara, R. J., Srikanth, K., Pallela, R. *et al.* 2009. The use of marine sponge, *Haliclona tenuiramosa* as bioindicator to monitor heavy metal pollution in the coasts of Gulf of Mannar, India. *Environ Monit Assess*. 156: 451–459.
- Verdiana, M., Widarta, I.W.R., & Permana, I.D.M. 2018. Pengaruh jenis pelarut pada ekstraksi menggunakan gelombang ultrasonik terhadap aktivitas antioksidan ekstrak kulit buah lemon (*Citrus Limon* (Linn.) Burm F.) *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*. 7(4): 213–222.
- Waltenspühl, Y., Schöppe, J., Ehrenmann, J., Kummer, L., & Plücker, A. 2020. Crystal structure of the human oxytocin receptor. *Science Advances*. 6(29): eabb5419–5130.
- Wang, J., & Pendergast, A. M. 2015. The emerging role of ABL kinases in solid tumors. *Trends in cancer*. 1(2): 110–123.
- Win, N. N., Kodama, T., Aye, A. A., Lae, K. Z. W., Ngwe, H., Han, N. M., Abe, I., & Morita, H. 2021. Pyrrolactams from marine sponge *Stylissa massa* collected from Myanmar and their Anti-Vpr activities. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 69(7): 702–705.
- Witanto, S., Ratnawati, D., & Anam, S. 2018. Pengelompokan fungsi aktif senyawa data SMILES (*simplified molecular input line entry system*) menggunakan metode k-means dengan inisialisasi pusat kluster menggunakan metode heuristik O(N LogN). *Jurnal Pengembangan Teknologi Informasi dan Ilmu Komputer*. 3(1): 702–707.

- Wu, D., Rice, C. M., & Wang, X. 2012. Cancer bioinformatics: A new approach to systems clinical medicine. *BMC Bioinformatics*. 13(71): 1–4.
- Wulandari, E., & Hendarmin, L. A. 2010. *Integrasi Biokimia dalam Modul Kedokteran*. Lembaga Penelitian UIN Syarif Hidayatullah. Ciputat. 273 hlm.
- Wulff, J. 2012. Ecological interactions and the distribution, abundance, and diversity of sponges. *Advances in Marine Biology*. 61: 273–344.
- Xue, Y., Vughs, D., Hater, W., Huiting, H., Vanoppen, M., Cornelissen, E., Verliefe, A., & Brunner, A. M. 2020. Liquid chromatography-high-resolution mass spectrometry-based target and nontarget screening methods to characterize film-forming amine-treated steam-water systems. *Industrial & Engineering Chemistry Research*. 59(51): 22301–22309.
- Yin, J., Cai, Z., Zhang, L., Zhang, J., He, X., Du, X., & Lu, J. 2013. A recombined fusion protein PTD-Grb2-SH2 inhibits the proliferation of breast cancer cells in vitro. *International Journal of Oncology*. 42: 1061–1069.
- Yusransyah., Pratiwi, D., & Khaerunnisa, L. 2016. Studi *in silico* senyawa alkaloid dari bunga tapak dara (*Catharanthus roseus* (L) G. Don) pada reseptor estrogen beta sebagai antikanker payudara. *Farmazine*. 3(2): 16–20.
- Zedda, M., & Zwiener, C. 2012. Is nontarget screening of emerging contaminants by LC-HRMS successful? A plea for compound libraries and computer tools. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 403(9): 2493–2502.