

**UJI *IN SILICO* SENYAWA AKTIF SPONS *Stylissa massa* (Carter, 1887)
TERHADAP PROTEIN SEL KANKER KOLOREKTAL**

SKRIPSI

Oleh

**ANITA HERMINDA
NPM 2114221023**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDARLAMPUNG
2025**

**UJI *IN SILICO* SENYAWA AKTIF SPONS *Stylissa massa* (Carter, 1887)
TERHADAP PROTEIN SEL KANKER KOLOREKTAL**

Oleh

ANITA HERMINDA

Skripsi

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

Pada

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



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDARLAMPUNG
2025**

ABSTRAK

UJI *IN SILICO* SENYAWA AKTIF SPONS *Stylissa massa* (Carter, 1887) TERHADAP PROTEIN SEL KANKER KOLOREKTAL

Oleh

ANITA HERMINDA

Kanker kolorektal merupakan salah satu jenis kanker dengan jumlah kasus dimortalitas yang semakin tinggi di Indonesia dan dunia. Upaya penemuan obat antikanker baru terus dikembangkan, salah satunya melalui eksplorasi biota laut seperti spons *Stylissa massa* yang diketahui menghasilkan berbagai senyawa bioaktif. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi potensi senyawa aktif dari *Stylissa massa* sebagai agen antikanker kolorektal melalui pendekatan *in silico* dengan metode *molecular docking*. Senyawa diperoleh melalui data LC-HRMS dan database KNApSACk, kemudian diseleksi berdasarkan aktivitas sitotoksik menggunakan CLC-Pred. Prediksi target protein dilakukan dengan SEA Search Server dan Therapeutic Target Database (TTD), yang dilanjutkan dengan analisis Protein-Protein Interactions menggunakan STRING-DB. Hasil tahap tumpang tindih menunjukkan dua senyawa potensial (Asam flufenamat dan MFCD00135810) dengan sepuluh target protein kanker kolorektal. *Molecular docking* menunjukkan afinitas ikatan yang kuat antara senyawa dan protein target, terutama asam flufenamat terhadap reseptor KIT, NTRK1 dan RET. Hasil ini menunjukkan bahwa senyawa aktif dari spons *S. massa* memiliki potensi sebagai kandidat agen antikanker kolorektal dan dapat dikembangkan lebih lanjut melalui uji eksperimental lanjutan.

Kata kunci: *In Silico*, Kanker Kolorektal, *Molecular Docking*, *Stylissa massa*.

ABSTRACT

IN SILICO TEST OF THE ACTIVITY SOLUTION OF SPONS *Stylissa Massa* (CARTER, 1887) AGAINST COLORECTAL CANCER CELL PROTEIN

By

ANITA HERMINDA

Colorectal cancer is one of the most common cancer types with an increasing number of mortality cases in Indonesia and the world. The discovery of new anti-cancer drugs continues to be pursued, including through the exploration of marine biota such as the sponge *Stylissa massa*, known for producing various bioactive compounds. This study aims to identify the potential of active compounds from *S. massa* as colorectal anticancer agents using an in silico approach with molecular docking methods. Compounds were obtained through LC-HRMS analysis and the KNApSAcK database, and screened for cytotoxic activity using CLC-Pred. Protein target prediction was conducted via the SEA Search Server and the Therapeutic Target Database (TTD), followed by protein-protein *interactions* (PPI) analysis using STRING-DB. The overlapping results revealed two potential compounds (Flufenamic acid and MFCD00135810) with ten colorectal cancer-related target proteins. Molecular docking demonstrated strong binding affinities, particularly flufenamic acid with KIT, NTRK1, and RET receptors. These findings indicate that active compounds from *S. massa* show potential as candidate colorectal anti-cancer agents and need more experimental investigation.

Keywords: Colorectal Cancer, In Silico, Molecular Docking, *Stylissa massa*.

Judul Skripsi

: *UJI IN SILICO* SENYAWA AKTIF SPONS

Stylissa massa (Carter, 1887) TERHADAP

PROTEIN SEL KANKER KOLOREKTAL

Nama Mahasiswa

: **Anita Herminda**

Nomor Pokok Mahasiswa

: 2114221023

Program Studi

: Ilmu Kelautan

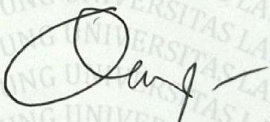
Fakultas

: Pertanian

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing


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


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

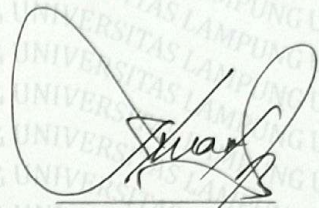
2. Ketua Jurusan Perikanan dan Kelautan


Munti Sarida, S.Pi., M.Sc., Ph.D.
NIP. 198309232006042001

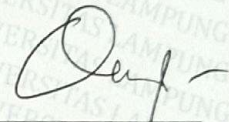
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

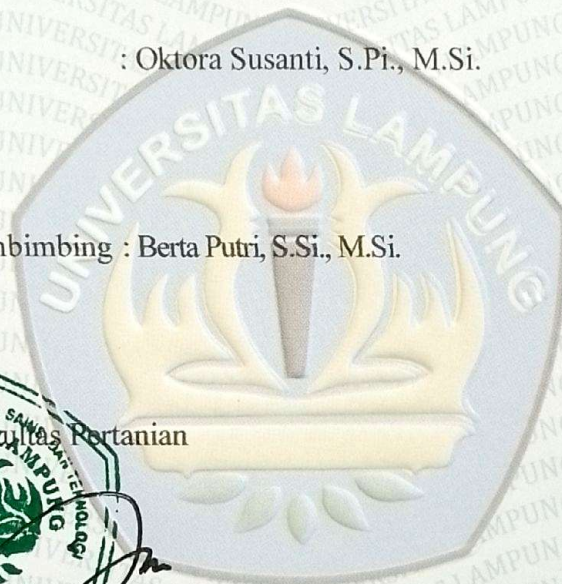
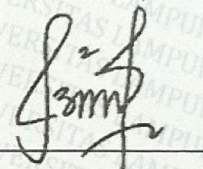
Ketua : Dr. Moh. Muhaemin, S.Pi., M.Si.



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



Penguji
Bukan Pembimbing : Berta Putri, S.Si., M.Si.



2. Dekan Fakultas Pertanian



Dr. H. Kuswanta Futas Hidayat, M.P.
NIP. 196411 18198902 1 002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 26 Juni 2025

PERNYATAAN

Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Skripsi ini adalah asli dan belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik sarjana baik di Universitas Lampung maupun perguruan tinggi lainnya.
2. Karya tulis ini murni gagasan, rumusan, dan penelitian saya sendiri tanpa bantuan pihak lain, kecuali arahan Tim Pembimbing.
3. Dalam karya tulis ini tidak terdapat karya atau pendapat yang ditulis atau dipublikasikan orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai acuan naskah, dengan naskah disebutkan nama pengarang dan dicantumkan dalam daftar pustaka.
4. Pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan apabila di kemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidakbenaran dalam pernyataan ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar yang telah diperoleh karena karya tulis ini serta sanksi lainnya sesuai norma yang berlaku di perguruan tinggi ini.

Bandar Lampung, 09 Oktober 2025

Yang membuat pernyataan



Anita Herminda

NPM. 2114221023

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Bandar Lampung pada 24 April 2004 sebagai anak terakhir dari empat bersaudara pasangan Bapak Erwan Effendi dan Ibu Musriin. Penulis memulai pendidikan formal Pendidikan Taman Kanak-Kanak (TK) Munawaroh (2008-2009), Sekolah Dasar (SD) Negeri 1 Kampung Sawah Lama (2009-2015), Sekolah Menengah Pertama (SMP) Kartika II-2 Bnadar Lampung (2015-2018), Sekolah Menengah Atas (SMA) Negeri 7 Bandar Lampung (2018-2021). Penulis melanjutkan Pendidikan ke jenjang sarjana (S1) pada tahun 2021 di Program Studi Ilmu Kelautan, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung melalui Jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN).

Semasa menjadi mahasiswa penulis pernah menjadi asisten praktikum mata kuliah Kimia Dasar pada periode ganjil 2022/2023, Avertebrata Laut pada periode ganjil 2023/2024, Botani Laut pada periode genap 2023/2024, dan Bioinformatika pada periode ganjil 2024/2025. Penulis bergabung dalam Tim Publikasi Dekorasi dan Dokumentasi (PDD) Program Studi Ilmu Kelautan sebagai sie admin pada tahun 2023-2024. Penulis pernah tergabung dalam organisasi Himpunan Mahasiswa Perikanan dan Kelautan (HIMAPIK) bidang Pengabdian Masyarakat dan turut serta berpartisipasi sebagai bendahara pelaksana dalam kegiatan Fisheries and Marine Conservation (FIC) yang diadakan oleh Himapik pada tahun 2023.

Penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Tri Mulya Jaya, Kecamatan Banjar Agung, Kabupaten Tulang Bawang, Lampung pada tahun 2024, Penulis melaksanakan Praktik Umum (PU) dengan judul “ Hubungan Klorofil-A terhadap Kemunculan Lumba-Lumba Tahun 2017 di Perairan Teluk Kiluan, Kabupaten Tanggamus, Provinsi Lampung”.

Bismillahirrahmanirrahim

Untuk kedua orang tuaku tersayang

Papa Erwan Effendi dan Mama Musriin

Yang senantiasa memberikan dukungan, semangat, dan doa yang selalu dilangitkan serta kasih sayang tiada terhingga. Terima kasih atas semua perjuangan dan pengorbanan untukku.

Untuk kakak-kakakku tersayang

Aa, iya dan anti yang senantiasa memberikan inspirasi, semangat dan motivasi. Terima kasih untuk keponakan-keponakkanku tersayang atas kelucuan-kelucuan yang menjadikan penyemangat.

SANWACANA

Puji syukur penulis ucapkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa, karena atas rahmat dan hidayah-Nya skripsi ini dapat diselesaikan. Skripsi dengan judul “ Uji *In Silico* Senyawa Aktif Spons *Stylissa Massa* (Carter, 1887) terhadap Protein Sel Kanker Kolorektal” adalah salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana sains di Universitas Lampung.

Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Dr. Ir. Kuswanta Futas Hidayat, M.P. selaku Dekan FP Unila;
2. Munti Sarida, S.Pi. M.Sc. Ph.D. selaku Ketua Jurusan Perikanan dan Kelautan;
3. Dr. Moh. Muhaemin, S.Pi., M.Si. selaku dosen pembimbing utama;
4. Oktora Susanti, S.Pi., M.Si. selaku dosen pembimbing pembantu dan dosen pembimbing akademik;
5. Berta Putri, S.Si., M.Si. selaku dosen penguji utama;
6. Kedua orang tua papa Erwan Effendi & mama Musriin yang telah mendoakan dan memberikan kasih sayang. Ketiga kakak penulis, Didi Nuzirwan, Aprilia Ectaria & Nur Santi Tri Marlana yang senantiasa memberikan inspirasi untuk melangkah maju.
7. Widya Asri sebagai teman seperjuangan, Sabrina Cinta Farani & Tiffany Regina serta teman-teman seperjuangan Prodi Ilmu Kelautan angkatan 2021.
8. Terakhir untuk diri sendiri Anita Herminda yang telah kuat sampai sekarang, mampu menghadapi segala rintangan kuliah maupun proses penyusunan skripsi.

Bandar Lampung, Oktober 2025

Anita Herminda

DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL	iii
DAFTAR GAMBAR	iv
DAFTAR LAMPIRAN	v
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian	3
1.3 Manfaat Penelitian	3
1.4 Kerangka Pemikiran	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Bioekologi Spons <i>Stylissa massa</i>	5
2.1.1 Habitat dan Sebaran Spons	6
2.1.2 Reproduksi Spons	7
2.1.3 Makanan dan Cara Spons Makan	7
2.1.4 Faktor Pembatas	8
2.2 Bioprospeksi Spons	8
2.3 Potensi Spons <i>Stylissa</i> Sebagai Antikanker	13
2.4 Kanker Kolorektal	14
2.5 Interaksi Ligan Dan Reseptor	15
2.6 <i>In Silico</i> dan <i>Molecular Docking</i>	16
III. METODE PENELITIAN	17
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	17
3.2 Bahan dan Alat	17
3.3 Metode Penelitian	18
3.4 Prosedur Penelitian	18
3.4.1 Tahapan dan Evaluasi Protein Senyawa Spons <i>Stylissa massa</i>	19
3.4.2 Prediksi Protein Target	21
3.4.3 <i>Molecular docking</i>	23
3.4.3.1 Preparasi Ligan	23
3.4.3.2 Preparasi Reseptor	24
3.4.3.3 Penambatan Molekul	25
3.4.4 Visualisasi Hasil <i>Docking</i>	27
3.4.5 Prediksi Profil Fisikokimia dan Farmakokinetika	28

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	29
4.5 Prediksi Profil Fisikokimia dan Farmakokinetika.....	43
V. SIMPULAN DAN SARAN.....	46
5.1 Simpulan	46
5.2 Saran	46
DAFTAR PUSTAKA.....	47
LAMPIRAN.....	56

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Aktivitas farmakologis spons laut	10
2. Bahan yang digunakan pada Penelitian.....	17
3. Alat yang digunakan pada penelitian	18
4. Senyawa <i>Stylissa massa</i> dan SMILES	29
5. Protein target sel kanker kolorektal yang terkait dengan senyawa dari ekstrak spons <i>Stylissa massa</i>	33
6. Protein-protein interactionss (PPI) terhadap 39 protein target kanker kolorektal.....	36
7. Protein target kanker kolorektal yang terpilih untuk diuji.	38
8. Molecular docking antara ligan dan reseptor	39
9. Kriteria Lipinski terhadap senyawa Asam flufenamat	44
10. Prediksi profil farmakokinetika Asam flufenamat	44

DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. Kerangka pemikiran	4
2. Prosedur penelitian.....	19
3. Evaluasi potensi senyawa spons <i>Stylissa massa</i>	20
4. Prediksi protein target	23
5. Prosedur <i>molecular docking</i>	28
6. <i>Protein-protein interactions</i> (PPI) terhadap 39 protein berinteraksi dengan target kanker kolorektal yang ditandai dengan kotak merah.....	35
7. Visualisasi asam flufenamat dengan reseptor 6MOB	41
8. Visualisasi asam flufenamat dengan reseptor 5KMI.....	42
9. Visualisasi asam flufenamat dengan reseptor 7JU5	43

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Evaluasi potensi senyawa spons <i>Stylissa massa</i>	56
2. Prediksi protein target.....	58
3. <i>Molecular Docking</i>	63
4. Penambatan molekul.....	69
5. Visualisasi	72
6. Nama senyawa hasil analisis hasil LC-HRMS	73
7. Prediksi aktivitas antikanker dari CLC-Pred (<i>Cell line cytotoxicity predictor</i>).....	75
8. Prediksi protein target dari SEA	78
9. Protein target kanker kolorektal dari <i>Therapeutic Target Database</i> (TTD) ...	92
10. Protein target kanker kolorektal dari STRING-DB	94
11. Statistik jaringan interaksi antar target dan fungsi jaringan terhadap kanker kolorektal dari ke-383 protein target.....	97
12. <i>Protein Target Data Bank</i> (PDB ID).....	97
13. Penentuan posisi docking dengan Grid Box	98

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kanker adalah penyakit yang ditandai oleh pertumbuhan dan penyebaran abnormal secara tidak terkendali (Gayatri et al., 2022). Sel kanker dapat merusak jaringan yang berada disekitarnya dan dapat melakukan metasis, sel kanker yang berasal dari berbagai jenis sel di dalam tubuh manusia dapat berkembang menjadi ganas (Brilliana et al., 2017). *World Health Organization* menyebutkan kanker termasuk salah satu penyebab utama kematian di seluruh dunia. Salah satu jenis kanker yang menjadi masalah kesehatan di dunia yaitu kanker kolorektal, yang terus meningkat serta merupakan kanker ketiga terbanyak ada pria dan kedua terbanyak pada wanita di dunia (Thamrin et al., 2020).

Di Indonesia, kanker kolorektal merupakan kanker peringkat ke-10 dari semua jenis kanker (Sander, 2012; Thamrin et al., 2020). Kanker Kolorektal (KKR) a-tau *Colorectal Cancer* adalah jenis kanker yang berasal dari jaringan usus besar (Zannah et al., 2021). Kanker tersebut timbul akibat akumulasi mutasi genetik pada sel epitel kolon dan rektum, yang memicu pembelahan, migrasi, serta diferensiasi sel secara berlebihan sehingga menimbulkan proliferasi, invasi, dan metastasis pada sel-sel tersebut. (Sanjaya et al., 2023). Kanker kolorektal termasuk jenis tumor ganas yang berkembang pada bagian kolon maupun rektum (Sayuti, 2019).

Bioprospeksi lautan adalah kegiatan riset senyawa bioaktif dari organisme lautan untuk tujuan farmakologi. Metabolit sekunder yang dihasilkan oleh berbagai sumber daya genetik merupakan objek utama kegiatan bioprospeksi (Lutfhy, 2015). Salah satu sumber daya potensial dalam pengembangan industri farmasi,

penghasil metabolit sekunder adalah spons. Senyawa bioaktif yang dihasilkan oleh spons laut menjadi sumber potensial senyawa baru, dapat digunakan sebagai kandidat obat karena memiliki aktivitas farmakologis dengan sifat toksik untuk menghambat maupun membunuh sel kanker (Swantara et al., 2016).

Menurut Swantara et al., (2019) beberapa peneliti menyatakan hampir 5000 senyawa telah diisolasi dari spons dan diketahui memiliki berbagai efek biologis seperti aktivitas antimikroba, antijamur, antivirus, dan antikanker. Ekstrak metabolit yang diperoleh dari spons laut mengandung berbagai senyawa bioaktif dengan beragam aktivitas biologis, diantaranya sebagai antivirus, anti-HIV, antiinflamasi, antijamur, antileukimia, penghambat enzim, antimalaria, antioksidan, sitoprotektif, dan antitumor. Kelas Calcarea dan Demospongiae adalah spesies spons yang paling banyak menghasilkan senyawa bahan alam (Putra, 2023). Beberapa senyawa yang berpotensi sebagai zat obat dari spons *Stylissa massa* yaitu, Stylissatin A (peptida siklik) sebagai agen antiinflamasi, Stylissatin B sebagai agen antitumor, Spongiacidin C sebagai penghambat USP7, dan alkaloid aldisine sebagai penghambat MEK-1 (Presson et al., 2021). Metode penelitian eksperimen laboratorium memiliki kekurangan yaitu terbatasnya lingkungan laboratorium yang terkontrol, proses pengujian yang kompleks dan rumit serta biaya dan waktu. Oleh karena itu, untuk mengatasi keterbatasan penelitian konvensional, metode *in silico* dipilih sebagai solusi komputasional yang efektif.

Metode *in silico* adalah pendekatan pemodelan molekul dilakukan melalui proses *docking* molekul untuk memprediksi aktivitas senyawa pada sel target tertentu (Kesuma et al., 2018). Secara umum, istilah *in silico* merupakan eksperimen yang dilakukan dengan bantuan komputer. Metode *in silico* digunakan untuk menganalisis interaksi antara suatu senyawa dengan molekul target, termasuk salah satunya reseptor (Setiawan & Istyastono, 2015). Penelitian *in silico* melalui metode *molecular docking* sering dianggap sebagai tahap awal dalam perancangan penemuan obat baru merupakan salah satu dari ilmu bioinformatika.

Tahap *molecular docking* merupakan metode berbasis komputasi digunakan untuk mengidentifikasi pola interaksi yang paling sesuai antara dua molekul, yaitu reseptor dan ligan. Proses tersebut bertujuan untuk memperoleh konformasi optimal dari kompleks protein–ligan (Setiawan & Irawan, 2017). *Molecular docking* dengan metode *in silico* dapat membantu memprediksi apakah senyawa aktif yang terdapat di spons *Stylissa massa* berpotensi sebagai antikanker sejalan dengan penelitian Afina et al., (2018) menyatakan Sekitar 60% dari penemuan obat antikanker merupakan derivat dari senyawa bahan herbal. Menurut penelitian Almattin et al., (2024) mengidentifikasi bahwa penelitian *in silico* telah memberikan wawasan penting tentang interaksi reseptor kanker dan aktivitasnya terhadap berbagai jenis sel kanker dan dapat memberikan kontribusi signifikan pada pengembangan terapi antikanker yang efektif.

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian sebagai berikut:

1. mengidentifikasi molekul spons *Stylissa massa* sebagai antikanker kolorektal, dan
2. mengevaluasi uji *in silico* senyawa antikanker *Stylissa massa* terhadap protein sel kanker kolorektal.

1.3 Manfaat Penelitian

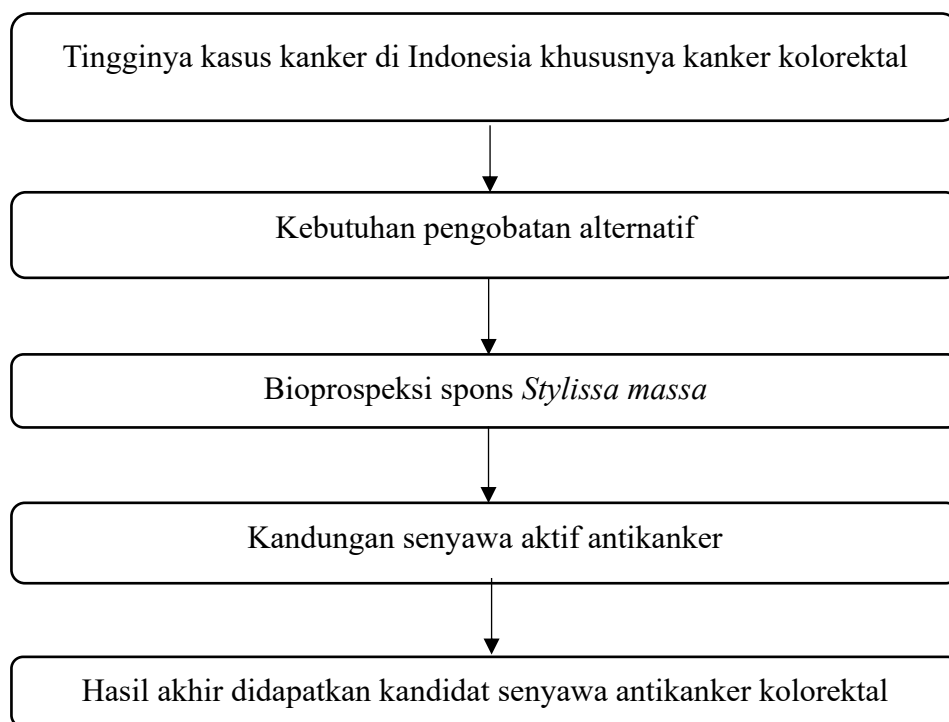
Penelitian diharapkan dapat memberikan informasi senyawa aktif yang berasal dari biota laut yaitu *Stylissa massa* yang memiliki potensi sebagai antikanker kolorektal sehingga dapat dilakukan penelitian lanjutan.

1.4 Kerangka Pemikiran

Kanker kolorektal terus mengalami peningkatan dan menjadi permasalahan kesehatan. Pada tingkat dunia, kasus kanker kolorektal menempati posisi ketiga terbanyak pada pria dan posisi kedua terbanyak pada wanita Sementara Indonesia

Indonesia kanker kolorektal berada pada urutan ke-10 dari seluruh jenis kanker yang ada. Organisme laut spons mampu menghasilkan metabolit sekunder. Spons dikenal sebagai penghasil senyawa bioaktif yang berpotensi hampir 5000 senyawa yang telah berhasil diisolasi. Senyawa-senyawa tersebut memiliki beragam manfaat biologis mulai dari antimikroba, antijamur, antivirus, hingga antikanker. Berbagai jenis spons, kelas Calcarea dan Demospongiae merupakan penghasil senyawa bahan alam terbanyak.

Spons *Stylissa massa* termasuk dalam kelas Demospongiae yang menunjukkan potensi sebagai antikanker. Penelitian potensi spons *Stylissa massa* dilakukan menggunakan metode *molecular docking* dalam uji *in silico*. Metode *in silico* merupakan teknik pemodelan molekul yang dilakukan dengan cara menghubungkan molekul yang akan diteliti aktivitasnya dengan sel target yang telah ditentukan. Kerangka pikir penelitian disajikan pada gambar (Gambar 1).



Gambar 1. Kerangka Pemikiran

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bioekologi Spons *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	: <i>Stylissa</i>
Spesies	: <i>Stylissa massa</i>

Spons adalah salah satu hewan multiseluler paling sederhana dan termasuk dalam filum tertua yang masih ada saat ini yaitu filum Porifera. Spons laut memiliki tubuh berpori dan berperan sebagai *filter feeder* atau mampu menyerap, menyaring serta memompa nutrient dari lingkungan sekitarnya untuk mendapatkan makanan (Rozanah et al., 2023).

Spons diklasifikasikan dalam empat kelas: Calcarea (5 bangsa dan 24 suku), Hexactinellida (6 bangsa dan 20 suku), Demospongiae (15 bangsa dan 92 suku), dan Homoscleromorpha (1 bangsa dan 2 suku). Perbedaan ciri antar kelas ditentukan oleh keberadaan dan komposisi spikula dan spongin. Demospongiae merupakan kelas spons terbesar mencakup 90% dari seluruh jenis spesies spons

dengan tingkat keragaman tinggi. Sebagian besar Demospongiae hidup di laut, meskipun beberapa spesies juga ditemukan di perairan tawar. Contoh spesies yang termasuk dalam kelas Demospongiae yaitu *Clathria basilana*, *Callyspongia (Cladochalina) glomerata*, dan *Callyspongia aerizusa* (Rozanah et al., 2023).

Spons spesies *Stylissa axinella damicornis* berhubungan dekat antara *Agelasidae* dan taksa halichondrid, *Stylissa* dan *Axinella* berbeda famili namun mereka berkerabat dekat (Erpenbeck et al., 2006). Menurut Longakit et al., (2005) *Stylissa massa* memiliki bentuk yang besar, tegak, pipih atau bulat dapat tumbuh menempel ke tanah melalui bagian yang sempit atau dapat tumbuh menyamping di tanah. permukaannya kasar dan mikrohispid, ostia dan oscula tersebar secara acak. teksturnya sangat lunak, keras dan lembek. Berwarna kuning cerah saat masih hidup. Spikula tersusun dalam struktur plumoretikula longgar, setiap jalur berakhir dengan spikula yang menonjol ke permukaan; area lain tidak memiliki spikula. Spons *Stylissa massa* memiliki tubuh berpori dengan permukaan yang keras menyerupai batu, serta mampu menyerap oksigen dari air melalui proses difusi (Leon et al., 2023).

2.1.1 Habitat dan Sebaran Spons

Spons merupakan salah satu biota laut penyusun dalam ekosistem pesisir dan laut, khususnya pada ekosistem terumbu karang dan lamun di perairan tropis dan sub tropis (Wulf, 2010; Sayori et al., 2022). Sebaran spons mulai dari wilayah perairan zona intertidal hingga zona subtidal. Keanekaragaman jenis spons umumnya dipengaruhi oleh kualitas perairan jernih dan minimnya arus yang kuat. Spons dapat ditemukan pada berbagai kedalaman yang berbeda dengan tingkat kecerahan yang mendukung untuk pertumbuhannya (Haedar et al., 2016). Spons tumbuh dengan cara menempel pada substrat keras di bawah laut seperti bebatuan dan karang. Kehidupan spons sangat dipengaruhi oleh kondisi lingkungannya, terutama ketersediaan nutrisi yang berperan dalam menentukan jenis serta jumlah mikrosimbion yang dimilikinya. Habitat dengan topografi yang landai, menyediakan kondisi stabil dan tenang sehingga mendukung spons untuk beradaptasi dan mela-

kukan penyerapan nutrisi yang sehingga pertumbuhan dan perkembangan spons meningkat lebih baik (Marzuki, 2018).

2.1.2 Reproduksi Spons

Reproduksi spons dilakukan secara reproduksi seksual dan aseksual yaitu, sebagai berikut:

- a. Reproduksi seksual terjadi ketika sel sperma membuahi sel telur. Pada porifera umumnya bersifat hemafrodit karena telur dan sperma diproduksi oleh individu yang sama, tetapi sperma tidak dapat membuahi sel telur di dalam tubuhnya sendiri, sehingga proses pembuahan hanya berlangsung melalui pertemuan sperma dan sel telur antara individu yang berbeda.
- b. Reproduksi aseksual terjadi tanpa proses pembuahan oleh sperma di dalam sel telur. Pada porifera reproduksi aseksual terjadi melalui dua mekanisme, yaitu melalui pembentukan kuncup dan gemula (kuncup dalam). Gemulas adalah benih yang dihasilkan ketika kondisi lingkungan tidak mendukung, misalnya suhu terlalu rendah atau terlalu tinggi (Tuaptty & Alimudi, 2022).

2.1.3 Makanan dan Cara Spons Makan

Sumber utama nutrisi dari spons berasal dari bakteri plankton dengan tambahan senyawa organik dihasilkan melalui fotosintesis oleh alga simbiotik dan substansi organik terlarut kemudian diserap oleh bakteri simbiosis (Wantah et al., 2018). Nutrien tersebut secara selektif ditangkap oleh sel-sel bersilia pada spons (Fidayat et al., 2021). Spons memperoleh makanan dengan menyaring air (*filter feeder*) yang melewati seluruh permukaan tubuh secara aktif (Marzuki, 2017). Sebagai organisme *filter feeder*, spons berperan dalam mengurangi patogen yang banyak terdapat di air laut dengan menghasilkan bahan bioaktif (Rifai et al., 2013).

2.1.4 Faktor Pembatas

Beberapa faktor dapat membatasi pertumbuhan dan distribusi spons, termasuk parameter fisik dan biologis seperti kedalaman, tingkat kekeruhan, salinitas, kecepatan aliran air, konsentrasi nutrien, jenis substrat, serta tekanan pemangsaan. Kelimpahan dan keanekaragaman sebagian besar spesies spons meningkat seiring dengan kedalaman. Spons laut menghindari air keruh karena partikel di kolom air sering menyumbat oscula mereka, sehingga menghambat pernapasan dan makan (Beepat et al., 2013).

Kedalaman dan intensitas cahaya merupakan hambatan bagi spons laut karena kedalaman perairan berkaitan dengan intensitas cahaya dan tingkat kecerahan perairan yang berperan dalam mendukung pertumbuhan spons karena menentukan penetrasi cahaya yang dibutuhkan untuk fotosintesis. Semakin dalam suatu perairan, maka semakin berkurang intensitas dan kemampuan cahaya untuk menembus ke dalam air. Spons membutuhkan sejumlah cahaya tertentu untuk mendukung perkembangan sel dan metabolismenya. Selain cahaya, arus laut berperan membawa pasokan makanan yang diperlukan spons untuk tumbuh dan berkembang. Kondisi optimal cahaya dan nutrisi akan mendorong proses metabolisme yang intensif pada spons di lingkungan laut (Asran et al., 2018).

2.2 Bioprospeksi Spons

Bioprospeksi (*biodiversity prospecting/ bioprospecting*) adalah eksplorasi terhadap keanekaragaman hayati untuk mencari sumber daya genetik dan biokimia untuk kepentingan komersial (Santoso, 2016). Rangkaian bioprospeksi terdiri dari eksplorasi, penelitian, produksi, dan konservasi. Seluruh kegiatan bioprospeksi berfokus pada pemanfaatan khasiat dari sumber daya hayati sebagai bahan baku dalam pengembangan produk farmasi yang diarahkan menuju komersialisasi produk inovatif di bidang kesehatan (Anindita et al., 2023).

Spons merupakan biota laut yang mempunyai potensi s potensi tinggi dalam menghasilkan senyawa bioaktif dengan tingkat keaktifannya lebih besar dibandingkan dengan senyawa dari tumbuhan darat. Ekstrak metabolit spons diketahui

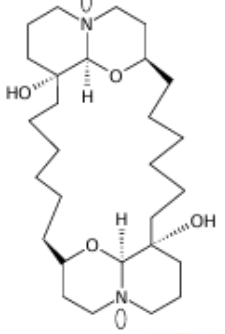
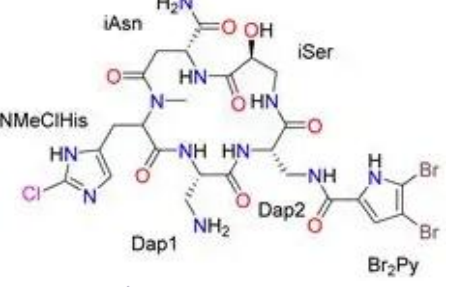
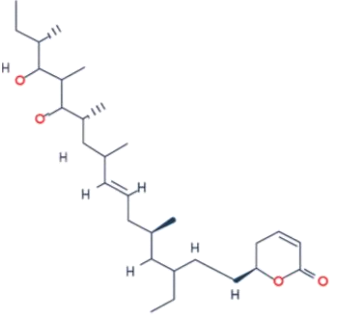
mengandung senyawa bioaktif yang memiliki berbagai aktivitas, antara lain, sitotoksik dan antitumor, antivirus, anti HIV dan antiinflamasi, antifungi, antileukimia, penghambat aktivitas enzim. Selain berperan sebagai sumber senyawa bahan alam, spons juga memiliki fungsi penting sebagai indikator biologis dalam ekosistem laut. pemantauan pencemaran laut serta indikator dalam interaksi komunitas sebagai hewan penting untuk akuarium laut (Suparno et al., 2005).

Produk turunan spons dari nukleosida, terpena, sterol, peptida siklik, dan alkaloid terbukti memiliki sifat farmakologis seperti antibakteri, antivirus, antijamur, antimalaria, antitumor, immunosupresif, dan aktivitas kardiovaskular. Spons laut menghasilkan molekul pelindung sitotoksik, terutama proapoptotik, terhadap patogen, predator, dan parasit. Beberapa molekul yang diekstraksi dari spons telah terbukti efektif melawan kanker. Contohnya molekul yang diekstraksi dari *Demospongiae*, yang dikenal sebagai spongosin, yaitu spongouridin dan spongotimidin, telah digunakan sebagai senyawa utama untuk sintesis agen kemoterapi kanker (Mannelli et al., 2021). Adapun data aktivitas farmakologis spons laut dari beberapa hasil penelitian yang di sajikan Tabel 1.

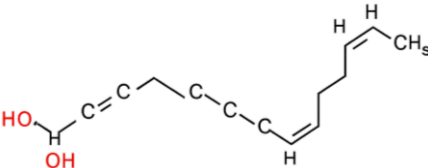
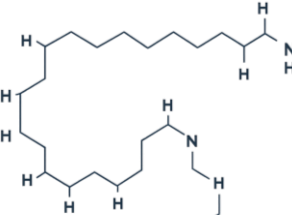
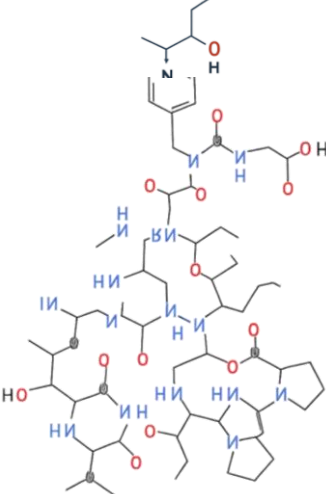
Tabel 1. Aktivitas farmakologis spons laut

Nama spons	Aktifitas biologis	Nama senyawa	Struktur senyawa	Sumber
<i>Xestospongia</i>	Antikanker	Renieramcin M dan analognya hydroquinon e 5-O monoester		(Tun et al., 2019).
<i>XestoSpongia sp</i>	Antikanker	1. Renieramycins T		(Chantarawong et al., 2019).
		2. 5-O Acetyl Renieramycin T		(Chantarawong et al., 2019).

Tabel 1. Aktivitas farmakologis spons laut (Lanjutan)

Nama spons	Aktifitas biologis	Nama senyawa	Struktur senyawa	Sumber
<i>Xestospongia exigua</i>	Antikanker	Araguspongine C		(Akl et al., 2015).
<i>Ircinia sp</i>	Antikanker	Haloirciniamide A		(Fernández et al., 2020).
<i>Callyspongia truncata</i>	Antikanker	Callystatin		(Nurhaniefah et al., 2022).

Tabel 1. Aktivitas farmakologis spons laut (Lanjutan)

Nama spons	Aktifitas biologis	Nama senyawa	Struktur senyawa	Sumber
<i>Callyspongia sp.</i>	Antivirus	Siphonodiol		(Nurhaniefah et al., 2022).
<i>Leucetta sp</i>	Antiinflamasi	leucettamol A		(Putra, 2023).
<i>Callyspongia aff. implexa</i>	Antin inflamasi	Callyaerin A		(Nurhaniefah et al., 2022).

2.3 Potensi Spons *Stylissa* Sebagai Antikanker

Spons laut dapat menghasilkan berbagai senyawa bioaktif dengan aktivitas sitotoksik yang berpotensi tinggi, antara lain alkaloid, steroid, terpena, peptida, makrolida, polibidida, serta senyawa turunan sphingosine seperti sphingosine-4-sulfat (Eltamany et al., 2015; Fristiohady et al., 2020). Spons mengandung berbagai metabolit sekunder yang diduga memiliki efek antitumor. Senyawa *Stylisin* telah diisolasi dari genus *Stylissa* dan menunjukkan sifat antioksidan. Menurut penelitian Putri & Hadisaputri (2016) menunjukkan bahwa beberapa spons dari kelas Demospongiae diketahui memiliki senyawa dengan aktivitas antikanker terhadap sel kanker payudara (T47D dan MCF-7), sel kanker serviks (HeLa dan Hep 2), kanker kolon (HCT116, HCT116p53KO, LoVo, caco-2), dan sel kanker prostat (PC-3). Ekstrak *Stylissa carteri* menghambat pertumbuhan spheroids dan menginduksi apoptosis, serta menunjukkan aktivitas antitumor yang bersinergi dengan agen anti-kanker konvensional seperti doxorubicin dan paclitaxel. Ekstrak *Stylissa carteri* mengandung 1,2-Benzenediol, Dibutyl phthalate, asam 9,12 Octadeca-dienoic, etil ester dan banyak senyawa lainnya (Sukmaningrum et al., 2020).

Senyawa-senyawa yang berpotensi sebagai antikanker membunuh dan menyerang sel kanker dengan beberapa mekanisme yaitu :

1. Memacu apoptosis sel yang berarti meningkatkan kematian jumlah sel membuat antiproliferasi yang menyebabkan pertumbuhan sel kanker tidak dilakukan dan bisa berhenti (Pratama & Nuwarda, 2018).
2. Berinteraksi langsung dengan DNA, efek sitotoksiknya lebih kuat pada sel dengan tingkat proliferasi tinggi (Moningka, 2018). Sejalan dengan penelitian Amalia et al., (2025) mekanisme kerja sebagian besar senyawa antikanker melibatkan induksi jalur apoptosis intrinsik maupun ekstrinsik, serta penghambatan jalur yang berkaitan dengan faktor pertumbuhan.

Proses apoptosis adalah proses kematian sel terprogram yang ditandai oleh perubahan morfologis, termasuk kondensasi dan fragmentasi inti, penyusutan sitoplasma, serta pembentukan (*apoptotic body*) berisi berisi fragmen inti sel yang dikelilingi oleh sitoplasma dan membran sel. Secara umum, apoptosis dapat

terjadi melalui dua jalur mekanisme, yaitu jalur intrinsik (*mitochondrial pathway*) dan jalur ekstrinsik (*death receptor pathway*). Jalur intrinsik terjadi akibat peningkatan permeabilitas mitokondria, yang menyebabkan pelepasan molekul proapoptotik ke sitoplasma tanpa keterlibatan *death receptor*. Jalur ekstrinsik terjadi akibat pengikatan pada *death receptor* di permukaan sel. *Death receptor* merupakan kelompok tumor *necrosis factor*, yang mempunyai bagian dalam sitoplasma disebut sebagai *death domain* berperan penting dalam penerusan sinyal apoptosis.

2.4 Kanker Kolorektal

Kanker kolorektal menempati urutan ketiga terbanyak pada pria dan urutan kedua pada wanita di dunia. Negara-negara dengan kasus kanker kolorektal yang meningkat adalah Australia, Selandia Baru, Eropa Barat, dan Eropa Selatan. Fakta unik yang terjadi adalah meskipun kejadian kanker kolorektal lebih tinggi di negara maju di seluruh dunia, tetapi angka kematian di negara-negara berkembang bahkan lebih tinggi. Fakta ini menunjukkan bahwa kelangsungan hidup seseorang yang menderita kanker kolorektal lebih tinggi di negara-negara maju dibandingkan dengan negara-negara berkembang (Thamrin et al., 2020). Menurut Tariq & Ghias (2016), Angka kejadian lebih tinggi di negara-negara yang lebih maju (737.000 kasus/tahun) dibandingkan di negara-negara yang kurang berkembang (624.000 kasus/tahun). Namun, angka kematian lebih tinggi di negara-negara yang kurang berkembang (52% dari total kematian), hal tersebut menunjukkan kelangsungan hidup yang buruk. Kanker dapat muncul akibat satu atau gabungan dari tiga faktor yang berbeda yaitu ketidakstabilan kromosom (CIN), fenotipe metilator pulau CpG (CIMP), dan ketidakstabilan mikrosatelit (MSI).

Menurut Siegel et al., (2011), kanker kolorektal berkembang di usus besar atau rektum biasanya berkembang perlahan selama periode 10 hingga 15 tahun.

Usus besar memiliki 4 bagian:

- a. Bagian pertama disebut kolon asendens, dimulai pada bagian usus halus menempel di usus besar dan memanjang ke atas pada sisi kanan perut seseorang.
- b. Bagian kedua disebut kolon transversal karena melintasi tubuh dari sisi kanan ke sisi kiri.

- c. Bagian ketiga, yaitu kolon desendens, terus ke bawah di sisi kiri. Desendens, terus ke bawah di sisi kiri.
- d. Bagian keempat dikenal sebagai kolon sigmoid (karena bentuknya yang menyerupai huruf (“S”). Kolon sigmoid menyatu dengan rektum, yang selanjutnya menyatu dengan anus.

Sel kanker memiliki kemampuan untuk merusak jaringan tubuh, dengan cara tumbuh langsung di jaringan yang ada di sekitarnya atau menyebar ke bagian tubuh lain atau disebut dengan metastasis. Pertumbuhan yang tidak terkendali terjadi karena kerusakan DNA, yang menimbulkan mutasi pada gen yang mengatur pembelahan sel. Beberapa buah mutasi dibutuhkan untuk mengubah sel normal menjadi sel kanker. Mutasi tersebut dapat disebabkan oleh paparan zat kimia maupun zat fisik yang disebut karsinogen (Fuad, 2017). Menurut Ahsani (2014), sel kanker bertahan hidup dengan meningkatkan kemampuan respon *survival* sel dan menghindari respon apoptosis sel atau kematian sel secara alami. Melalui mekanisme tersebut sel kanker mampu bertahan hidup, membentuk pembuluh darah baru (angiogenesis) yang pada akhirnya akan terjadi proses metastasis. Sel kanker juga dapat mereplikasi diri sendiri tanpa batas (Pratama & Nuwarda, 2018).

2.5 Interaksi Ligan dan Reseptor

Ligan adalah molekul netral atau ion donor elektron dan berfungsi sebagai gugus pengeliling ion pusat. Ikatan kovalen koordinasi dalam senyawa kompleks terbentuk karena donasi pasangan elektron dari ligan ke dalam orbital kosong ion pusat (Hermawati, 2016). Reseptor merupakan makromolekul seluler yang secara spesifik mampu berikatan langsung dengan ligan, sehingga memicu proses biokimia dalam sel menghasilkan efek biologis tertentu. Ikatan antara suatu ligan dan reseptornya bergantung pada kesesuaian antara dua molekul. Semakin tinggi afinitas ligan terhadap reseptor, semakin kuat pula interaksi yang terbentuk. Ikatan antara ligan-reseptor memiliki ketentuan, yaitu bahwa satu ligan hanya berikatan dengan satu tipe reseptor tertentu. Jika suatu ligan dapat berikatan dengan beberapa tipe reseptor, ligan itu dinyatakan kurang spesifik. Ketentuan tersebut dapat bersifat kimiawi atau biologi. Reseptor berfungsi mengenali dan mengikat suatu ligan dengan spesifisitas yang tinggi, kemudian meneruskan sinyal ke dalam sel melalui beberapa cara yaitu:

- a. Perubahan permeabilitas membran, adanya ikatan ligan dengan reseptor dapat menyebabkan membran menjadi lebih permeabel dengan adanya pembukaan kanal tertentu sehingga ion-ion tertentu.
- b. Pembentukan *second messenger*, ikatan obat dengan ligan akan menimbulkan rangkaian peristiwa biokimia yang menghasilkan berbagai molekul intrasel yang berperan elektron sehingga dapat berfungsi sebagai akseptor pasangan elektron (Hermawati, 2016).
- c. Memengaruhi transkripsi gen, ikatan ligan dengan reseptor dapat memengaruhi transkripsi gen, baik secara langsung maupun tidak langsung sehingga dapat menentukan jenis protein yang disintesis yang memberi efek farmakologis tertentu sesuai dengan respons seluler yang ditimbulkan (Ikawati, 2018).

2.6 *In Silico dan Molecular Docking*

Penelitian *in silico* atau terapi komputasi bertujuan untuk mengevaluasi kemampuan suatu senyawa berikatan dengan target dalam bentuk protein, melalui proses skrining virtual melibatkan berbagai konfigurasi molekuler. Metode *in silico* adalah pendekatan berbasis perangkat lunak untuk mengumpulkan, menganalisis, dan mengintegrasikan data biologis dan medis dari berbagai sumber (Afiansyah et al., 2023). Kelebihan dari metode *in silico* yang dapat mengeliminasi senyawa yang tidak aktif sejak tahap awal, serta terbukti memiliki tingkat akurasi yang lebih tinggi dibandingkan studi berbasis pemodelan hewan (Karim et al, 2023). Tahap *molecular docking* adalah simulasi komputer yang memprediksi interaksi antara atom dan molekul secara fisik untuk memahami pergerakan dan posisi partikel dalam waktu tertentu (Pawar & Rohane, 2021).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian merupakan penelitian lanjutan dari penelitian Caroline Lydia Aulia yang dilaksanakan pada Agustus 2022 – Januari 2023. Penelitian dilakukan di dua tempat, yaitu pengambilan sampel dan isolasi senyawa aktif *Stylissa massa* sudah dilakukan. Sampel diambil dari perairan Pulau Pahawang Lampung, dan ekstraksi spons dilakukan di Laboratorium Oseanografi Jurusan Perikanan dan Kelautan Universitas Lampung, serta analisis senyawa spons dilakukan di Laboratorium Metabolik Unit Laboratorium Riset Unggulan, Institut Pertanian Bogor. Oleh karena itu, penulis melanjutkan penelitian yang dilaksanakan pada bulan Juni 2024 – Januari 2025 dengan menggunakan metode uji *in silico*.

3.2 Bahan dan Alat

Adapun bahan yang digunakan pada penelitian disajikan pada (Tabel 2).

Tabel 2. Bahan yang digunakan pada Penelitian

No	Bahan	Keterangan	Jumlah	Fungsi/Kegunaan
1.	Data senyawa <i>Stylissa massa</i>	<i>Database</i>	100 senyawa aktif	<i>Database</i> indentifikasi senyawa.
2.	Struktur senyawa	File	1 senyawa ligan	<i>File</i> untuk preparasi. ligan/senyawa.
3.	File protein/reseptor	File	5 protein	<i>File</i> preparasi reseptor.
4.	Data bioaktivitas senyawa	<i>Database</i>	10 senyawa antikanker	<i>Database</i> untuk prediksi bioaktivitas senyawa.

Adapun alat yang digunakan pada penelitian disajikan pada (Tabel 3).

Tabel 3. Alat yang digunakan pada penelitian

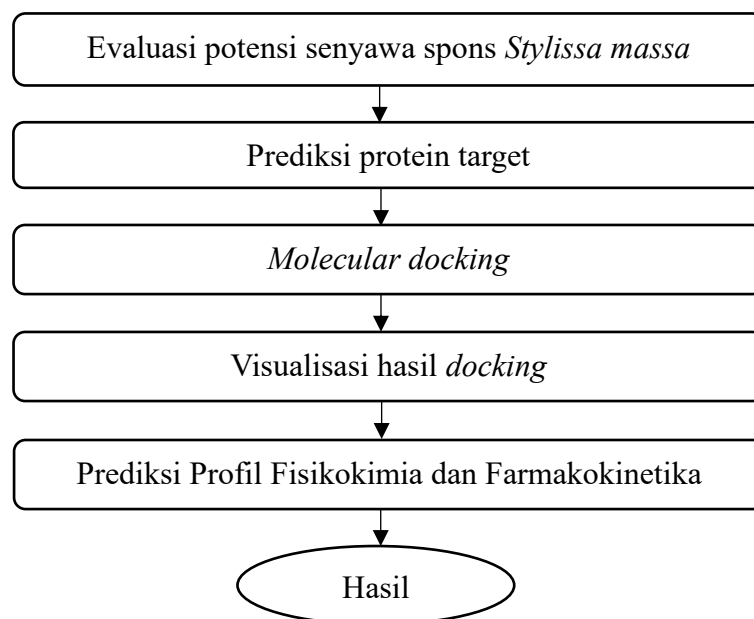
No	Alat	Keterangan/Tipe	Fungsi
1.	KNAPSAcK (www.knapsackfamily.com/KNAPSAcK/)	Perangkat lunak	Database senyawa spons <i>Stylissa massa</i> .
2.	PubChem (https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/)	Berbasis situs	Database struktur senyawa kimia.
3.	UniProt (www.uniprot.org/)	Perangkat lunak	Database protein.
4.	CLC-Pred (www.way2drug.com/Cell-line/)	Berbasis situs	Website untuk penapisan senyawa kanker.
5.	<i>SEA Search Server</i> (https://sea.bkslab.org/)	Perangkat lunak	Perangkat lunak berbasis situs untuk prediksi protein target.
6.	<i>Therapeutic Target Database</i> (https://db.idrblab.net/ttd/)	Situs database	Database protein target kanker kolorektal.
7.	Venny	Perangkat lunak	Tumpang tindih data protein target struktur senyawa kimia.
9.	<i>Discovery studio</i>	Perangkat lunak	Preparasi protein target dan visualisasi .
10.	<i>Autodock tools</i>	Perangkat lunak	Preparasi protein target.
11.	PyRx 0.8	Perangkat lunak	Penambatan molekul.
12.	PyMOL	Perangkat lunak	Validasi RMSD.

3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode pendekatan deskriptif dengan menggunakan metode *in silico*. Uji *in silico* dapat digunakan untuk mengetahui interaksi antara suatu senyawa dengan reseptor (Setiawan & Istyastono, 2015).

3.4 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian terbagi menjadi tiga proses utama yang disajikan pada gambar (Gambar 2).



Gambar 2. Prosedur Penelitian

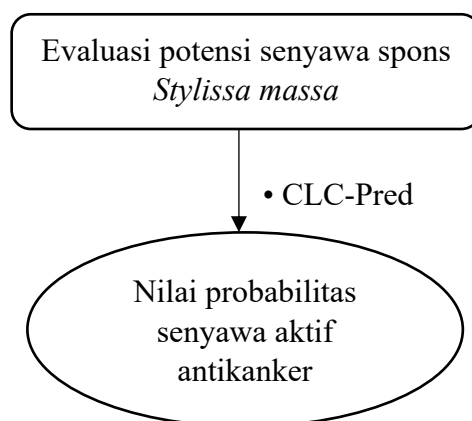
3.4.1 Tahapan dan Evaluasi Protein Senyawa Spons *Stylissa massa*

Senyawa aktif dari spons *Stylissa massa* yang telah didapatkan melalui proses isolasi selanjutnya akan dievaluasi. Proses isolasi dilakukan dengan dua cara, yaitu data mining dan analisis kromatografi. Data mining atau penggalian data senyawa aktif *Stylissa massa* dilakukan dengan mengakses database dari situs KNApSACk. Selanjutnya proses kedua data diambil dari hasil analisis *liquid chromatography-high-resolution mass spectrometry* (kromatografi cair spektrometri massa beresolusi tinggi) atau LC- HRMS yang dilakukan di Laboratorium Metabolik, Unit Laboratorium Riset Unggulan, Institut Pertanian Bogor. Tahapan evaluasi potensi senyawa spons dilakukan untuk penapisan aktivitas senyawa dengan menggunakan website CLC-Pred (*Cell line cytotoxicity predictor*) (Lampiran 1). Website CLC-Pred adalah layanan web untuk prediksi *in silico* efek sitotoksik senyawa kimia dalam lini sel non-transformasi dan sel kanker berdasarkan rumus struktur. Tahap awal evaluasi potensi senyawa *Stylissa massa* dilakukan dengan mencari Smiles pada senyawa bioaktif yang telah ditemukan melalui situs PubChem, langkah-langkah pencarian adalah sebagai berikut:

1. Situs PubChem dibuka (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) kemudian nama senyawa atau rumus senyawa dimasukkan dan klik search.
2. Smiles disalin kedalam Ms. Excel.
3. Langkah pada point 1,2, dan 3 diulangi terhadap semua senyawa.

Tahapan evaluasi potensi senyawa *Stylissa massa* selanjutnya dilakukan dengan menggunakan CLC-Pred (*Cell line Cytotoxicity predictor*). Tahapan evaluasi potensi senyawa disajikan pada gambar (Gambar 3). Langkah-langkah yang dilakukan adalah sebagai berikut:

1. Situs CLC-Pred dibuka melalui link (CLC-Pred: *in silico prediction of cytotoxicity for tumor and non-tumor cell lines*).
2. SMILES yang telah didapatkan dari hasil PubChem dimasukkan, diklik. “*make prediction*” diklik.
3. Situs CLC-Pred dibuka melalui link (CLC-Pred: *in silico prediction of cytotoxicity for tumor and non-tumor cell lines*).
4. SMILES yang telah didapatkan dari hasil PubChem dimasukkan, diklik. “*make prediction*” diklik.
5. Tabel hasil disalin namun tanpa kolom “Pi”. Cell-line yang dapat harus memiliki nilai Pa (*Probability of Activity*) > 0.5.
6. Langkah pada point 1,2, dan 3 diulangi terhadap semua senyawa.



Gambar 3. Evaluasi Potensi Senyawa Spons *Stylissa massa*

3.4.2 Prediksi Protein Target

Tahapan selanjutnya adalah prediksi molekuler yang dilakukan untuk menentukan cara kerja senyawa bioaktif yang sudah didapatkan dengan melakukan prediksi-protein target. Pada tahapan prediksi target menggunakan *SEA Search Server*. *SEA Search Server* menghubungkan protein berdasarkan kesamaan kimia yang ditetapkan di antara ligannya. Kemudian dilakukan pen-carian protein target kanker kolorektal dari *Therapeutic Targtyet Database* atau TTD, selanjutnya proses tumpang tindih hasil dari penapisan TTD dan SEA menggunakan *software* Venny. Kemudian dilakukan analisis interaksi protein-protein menggunakan STRING. Proses STRING dilakukan untuk mengetahui interaksi antar protein dari sejumlah target yang telah diperoleh (Lampiran 2). Prediksi protein target diawali dengan pencarian protein melalui *SEA Search Server* (Lampiran 2).

Langkah-langkah yang dilakukan pada *SEA Search Server* yaitu :

1. Situs *SEA Search Server* dibuka (<https://sea.bkslab.org/>).
2. Senyawa yang memiliki aktivitas antikanker pada CLC-Pred disalin SMILES dan diklik Try Sea.
3. Semua *target key* “***_Human” dipilih, disalin ke dalam tabel hasil Ms. Excel. Seluruh Langkah-langkah diatas dilakukan terhadap semua senyawa.

Tahapan prediksi protein target dilanjutkan dengan pencarian protein target yang saling berinteraksi menggunakan STRING-DB. Langkah-langkah yang dilakukan pada STRING-DB yaitu :

1. Situs STRING-DB dibuka melalui link (<https://string-db.org/>).
2. Seluruh protein target yang hasil dari *SEA Search Server* dimasukkan ke dalam “*multiple proteins*”.
3. Pada bagian organism “*Homo sapiens*” dipilih klik *search*.
4. Hasil interaksi dimunculkan setelah “*continue*” diklik, kemudian menu “analysis” dipilih. Pada “*Functional enrichments*” diklik “*More...*” dan pilih “*analysis*”.
5. “*Colon*” digunakan sebagai kata kunci dicari menggunakan CTRL+F, *pathway* diklik.

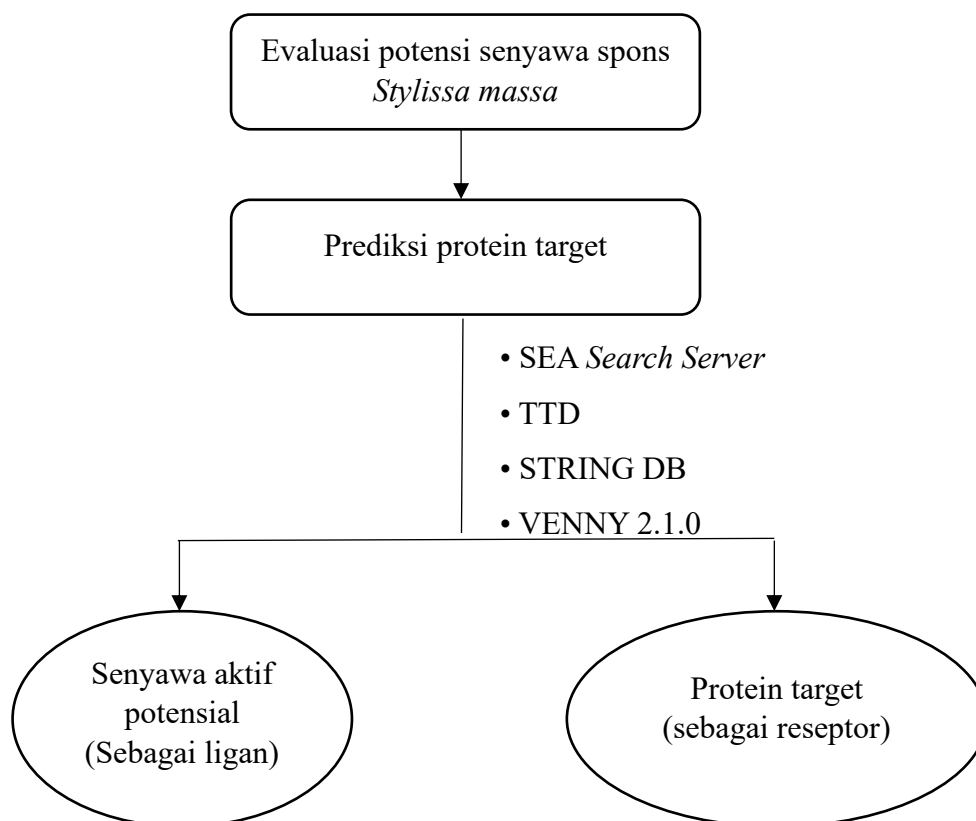
6. *Enrichment display setting* di ceklist pada bagian “*Display only selected rows*” dan diupdate.
7. *Save/Export* dipilih “*Selected terms only*” kemudian didownload.
8. Hasil download dimasukkan ke dalam Ms. Excel. Hasil yang di dapatkan dari STRING-DB ditandai dengan warna yang sesuai dengan kriteria pada protein target SEA Search Server.

Tahap selanjutnya yaitu pencarian tambahan menggunakan TTD (*Therapeutic Target Database*) dilakukan jika protein target tidak mencukupi data penelitian (Lampiran 2). Langkah-langkah menggunakan TTD sebagai berikut:
Situs TTD dibuka melalui (*TTD: Therapeutic Target Database*).

1. Kata kunci “*Colorectal Cancer*” sebagai kata kunci pencarian.
2. Pada “*Target Info*” diklik, perhatikan pada “*disease*”.
3. Semua “*Target Name*” dan “*UniProt ID*” disalin ke dalam Ms. Excel.

Setelah tahap SEA Search Server dan TTD (*Therapeutic Target Database*) dilakukan selanjutnya hasil dari SEA dan TTD dioverlay melalui software Venny 2.1.0 (Lampiran 2). Tahapan prediksi protein target disajikan pada gambar (Gambar 4). Langkah-langkah yang dilakukan sebagai berikut:

1. Situs Venny 2.1.0 dibuka melalui link
(<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/>).
2. Protein target hasil dari SEA Search Server dan TTD (*Therapeutic Target Database*) dimasukkan ke dalam kolom Venny 2.1.0.
3. Protein target yang dihasilkan dari *result* disalin ke dalam Ms. Excel.



Gambar 4. Prediksi Protein Target

3.4.3 Molecular docking

Prosedur *molecular docking* adalah prosedur komputasional yang dapat digunakan untuk memprediksi ikatan kimia dari makromolekul (reseptor) dengan sebuah molekul kecil (ligan) secara efisien menggunakan strukturnya melalui simulasi molecular docking (Frimayanti et al., 2021). Prosedur *molecular docking* terdapat tiga tahapan, yaitu preparasi ligan (1); preparasi reseptor (2) dan penambatan molekul (3).

3.4.3.1 Preparasi Ligan

Preparasi ligan dilakukan menggunakan prosedur pencarian struktur 3D senyawa kimia dengan PubChem. Senyawa yang telah diperoleh dari hasil analisis LC HRMS, dituliskan pada kolom pencarian di situs PubChem dan diunduh

dengan format file (*.sdf) konformasi 3D senyawa (Lampiran 3). Langkah-langkah preparasi ligan dilakukan sebagai berikut :

1. Situs Pubchem dibuka melalui (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>).
2. Nama senyawa yang telah didapatkan pada proses sebelumnya dimasukkan, kemudian pencarian dilakukan. Senyawa yang diinginkan dipilih, kemudian “*Strucutre*” pada bagian kanan dipilih.
3. Senyawa yang diinginkan dipilih, kemudian “*Strucutre*” pada bagian kanan dipilih. “*Download coordinates*” dipilih, kemudian simpan dengan format “sdf”.

3.4.3.2 Preparasi Reseptor

Preparasi reseptor dilakukan dengan mengunduh file 3D target protein yang terdapat pada situs database UniProt. Penggunaan *software Discovery studio* bertujuan untuk menghilangkan molekul air dan mengambil ligan asli kemudian penggunaan *software Autodock Tools* untuk mengubah format (*.pdb) menjadi (*.pdbqt). Menurut Muttaqin et al., (2019) pada umumnya struktur protein pada PDB mengandung molekul pelarut berupa air dan residu lainnya, sehingga diperlukan penghilangan molekul air agar tidak mengganggu pada saat simulasi penggunaan *software Autodock Tools* untuk mengubah format (*.pdb) menjadi (*.pdbqt). Menurut Muttaqin et al., (2019) pada umumnya struktur protein pada PDB mengandung molekul pelarut berupa air dan residu lainnya, sehingga diperlukan penghilangan molekul air agar tidak mengganggu pada saat simulasi *Docking* dilakukan dan untuk memastikan bahwa yang benar-benar berinteraksi adalah ligan dan reseptor. Langkah pertama yang dilakukan adalah mendownload struktur 3D dengan menggunakan UniProt dengan tahapan-tahapan berikut.

1. Situs PDB dibuka melalui link (RCSB PDB: Homepage).
2. Nama protein target yang telah diperoleh pada tahap sebelumnya dimasukkan.
3. File diunduh dalam format pdb.

Struktur protein target yang sudah didownload selanjutnya akan dilakukan penghilangan molekul air pada protein target menggunakan *software Discovery Video* dengan langkah-langkah berikut:

1. *Software Discovery Video* yang telah terinstal pada perangkat keras dibuka.
2. Menu “*File*” diklik, kemudian opsi “*Open*” dipilih file yang telah didownload kemudian open. Kontrol “*H*” diklik untuk menampilkan menu.
3. Pada menu water diklik kanan selanjutnya pilih opsi “*cut*”, pada menu *ligand groups* opsi “*File*” pada bagian kiri atas dipilih, kemudian “*save as*” diklik, disimpan dengan format “P (protein target)”.
4. File yang telah didownload dibuka kembali. Menu protein groups diklik kanan kemudian dicut. Selanjutnya opsi “*File*” pada bagian kiri atas dipilih, kemudian “*save as*” diklik. File disimpan dengan format “L(protein target)”.

Tahap penghilangan molekul air dan pemisahan ligan serta reseptor dilakukan preparasi lanjutan menggunakan *software autodock tools* dengan langkah-langkah sebagai berikut :

1. *Software Autodock Tools* yang telah terinstal pada perangkat keras dibuka.
2. Pada menu “*File*” diklik, pilih opsi “*read molecule*”.3. Menu edit diklik selanjutnya opsi “*Hidrogens*” dipilih add, radar only kemudian diklik “*OK*”.
3. Menu “*grid*” dipilih opsi “*molecule*” selanjutnya klik “*choose*” dipilih protein kemudian klik “*select molecule*”. File disave dengan format “P(protein target)2”.
4. Menu “*ligand*” kemudian opsi “*open*” dimasukkan file ligand. “*ligand*”diklik “*input*” selanjutnya klik “*choose*” pilih file ligan. “*ligand*”diklik kemudian save file dengan format pdbqt.

3.4.3.3 Penambatan Molekul

Proses penambatan molekul dilakukan menggunakan *software PyRx 0.8*, memilih fitur vina wizard dengan menginput reseptor dan ligan. Kompleks ligan-reseptor yang terbentuk divisualisasikan dengan *software discovery studio*.

Docking ligan dilakukan untuk menghasilkan nilai *binding energy* dalam satuan kkal/mol. Semakin kecil afinitas ikatan maka semakin kuat ikatan protein dan senyawa (Hanif et al., 2020). Semakin kecil nilai *binding energy* (mendekati nilai minus 12) maka semakin kuat ikatan afinitas (Ningrat, 2022). Langkah-langkah

penambahan molekul menggunakan *software* PyRX yang dilakukan sebagai berikut (Lampiran 4) :

1. *Software* PyRx yang telah terinstal pada perangkat keras dibuka.
2. Pada menu navigator *molecule* diklik kanan, “*load molecule*” pilih file protein yang telah dipreparasi “P(protein target)”. “P(protein target)” diklik kanan pilih opsi “*autodock*” kemudian klik “*make macromolecule*”.
3. Senyawa yang diperoleh dari PubChem dimasukkan. Karena file masih dalam format sdf, penambahan dilakukan menggunakan menu *Open Babel*. Pada menu *controls* pilih “*open babel*” diklik tanda (+) masukkan ligan yang sudah dipreparasi. Ligan diminimisasi dengan diklik kanan selanjutnya pilih “*minimize selected*”.
4. Pada ligan diklik kanan pilih “*convert to pdbqt*” untuk mengubah format menjadi pdbqt. Ligand dan protein berhasil ditambahkan di program PyRx. Proses *docking* dapat dilanjutkan dengan memilih molekul tersebut.
5. “*Vina Wizard*” dipilih untuk melakukan proses *docking* diklik “*start*” kemudian “*add ligand*” setelah itu klik *cancel*. Menu “*autodock*” dipilih Ligan dan protein selanjutnya klik “*forward*”.
6. *Grid box* disesuaikan dengan posisi kontrol menggunakan *Zoom in* dan *Zoom out*, serta klik kiri pada *mouse*.
7. Navigator *molecule*, diklik dua kali pada ligan kemudian akan muncul beberapa mode, pilih nilai RMSD yang terbaik (<2). Pada ligan yang dipilih klik kanan setelah itu *save* dengan format pdb.

Tahap *docking* dan hasil RMSD dilakukan selanjutnya validasi RMSD menggunakan *software* PyMOL. Langkah-langkah validasi adalah sebagai berikut :

1. *Software* PyMOL yang telah terinstal pada perangkat keras dibuka.
2. Menu *File* dipilih, kemudian file ligan yang belum di *docking* dimasukkan dan tombol *Open* diklik. Menu *File* dipilih, Hasil *docking* mode ligan dimasukkan dan diklik tombol *Open*.
3. Menu PyMOL dimasukkan kode align obj1, obj2, cycles=0, transform=0 dan klik *open*.

Tahap akhir molekuler doking yaitu penambatan molekuler doking antara ligan dari senyawa dengan hasil penambatan molekul dari tahap I dengan langkah-langkah sebagai berikut.

1. Program PyRx pada perangkat keras dibuka. File pdb pada senyawa uji/ ligan uji disiapkan. Senyawa uji dimasukkan pada open babel dibuka, kemudian Nama ligan diklik kanan, kemudian “*Minimize selected*” dipilih dan diklik tombol “Ok”.
2. Pada ligan diklik kanan dipilih “*convert to pdbqt*” untuk mengubah format menjadi pdbqt. Menu *Autodock*, protein target dan ligan alami yang akan didocking diklik.
3. “*Vina Wizard*” diklik memulai proses *docking*, “*Start*” diklik. Ligan dan *macromolecule* dipilih, kemudian diklik “*forward*”.
4. *Grid box* disesuaikan dengan ligan, semirip mungkin dengan *grid box docking* pertama. Pada opsi “*Exhaustiveness*”, nilai diubah menjadi 106 kemudian “*forward*” diklik.
5. Opsi “*Save as comma-separated values (csv)*” dipilih, kemudian file disimpan kedalam folder hasil. Mode hasil doking dengan nilai *binding affinity* dan nilai RMSD terbaik dipilih untuk tahap visualisasi.

3.4.4 Visualisasi Hasil *Docking*

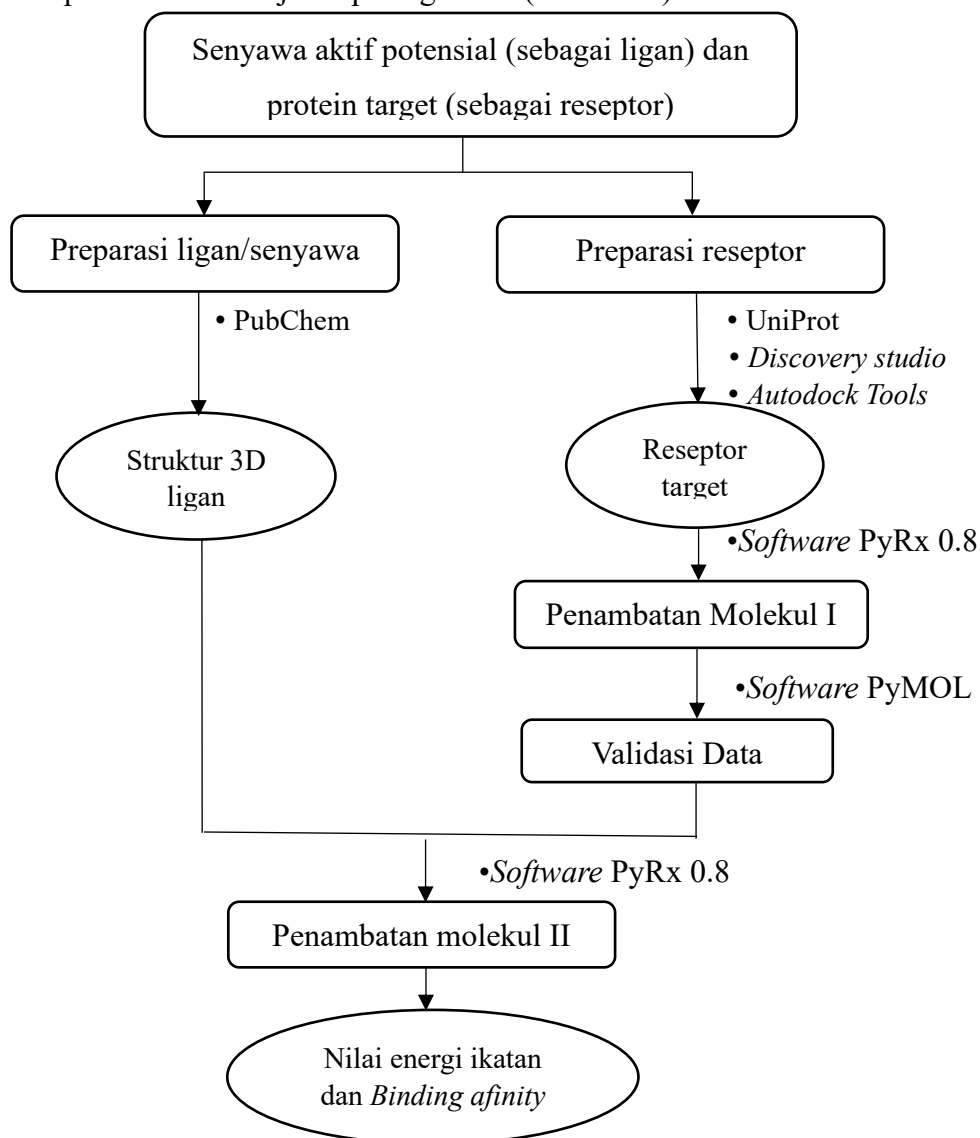
Visualisasi hasil *docking* perlu dilakukan. Analisis dengan mengamati interaksi yang terjadi selama proses docking antara protein dengan masing-masing ligan serta selektivitas setiap ligan terhadap protein yang dilihat dari hasil *energy binding* (Damayanti et al., 2022). Langkah-langkah visualisasi menggunakan *Software Discovery Studio* sebagai berikut (Lampiran 4):

1. *Software Discovery Studio* yang telah terinstal pada perangkat keras dibuka.
2. File P(protein target) dan hasil mode docking dengan senyawa di drag ke *Discovery Video*. Pada menu *view interactionss* diklik, *ligand interactionss*, dan *show distances*.
3. Untuk melihat 2D visualisasi dilik *show 2 diagram*.

3.4.5 Prediksi Profil Fisikokimia dan Farmakokinetika

Perangkat lunak SwissADME dari Institut Bioinformatika Swiss (<http://www.sib.swiss>) yang menampilkan halaman karakteristik dari suatu senyawa. SwissADME berisikan informasi sifat fisikokimia, lipofilisitas, kelarutan dalam air, farmakokinetik, kemiripan obat dan sifat kimia obat dari suatu senyawa (Rajith & Ravikumar, 2019).

1. Situs SwissSADME dibuka melalui link(<https://www.swissadme.ch/index.php>).
2. Pada kolom SwissSADME dimasukkan SMILES dari asam flufenamat dan klik “Run”. Kemudian akan ditampilkan karateristik dari senyawa asam flufenamat. Tahapan tersebut disajikan pada gambar (Gambar 5).



Gambar 5. Prosedur *Molecular Docking*

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Evaluasi Senyawa *Stylissa massa*

Hasil analisis ekstrak spons *Stylissa massa* menggunakan LC-HRMS (*liquid Chromatography-High-Resolution Mass Spectrometry*) menghasilkan 6 nama senyawa dengan 56 rumus molekul (Lampiran 6). Kemudian dilakukan pencarian SMILES (*Simplified Molecular Input Line Entry System*) terhadap 56 rumus molekul menggunakan situs PubChem menghasilkan 28 senyawa yang dapat ditentukan nama senyawa, rumus molekul, notasi struktur senyawa atau SMILES disajikan pada Tabel 4. SMILES merupakan suatu cara membaca kode ikatan kimia yang dituliskan untuk melakukan pengenalan senyawa dan informasi kimia dengan cara modern (Alfiyanti et al., 2019). Kode SMILES mengkonversi senyawa dalam bentuk notasi baris untuk menggambarkan senyawa kimia. Notasi SMILES dapat memberikan kemudahan pada proses komputerisasi dan penyimpanan data di komputer agar mempermudah pengelompokkan senyawa kimia (Witanto et al., 2019).

Tabel 4. Senyawa *Stylissa massa* dan SMILES

No	Nama Senyawa	Rumus Molekul	SMILES
1.	(4-karbofenil)merkuri	C7H5HgO2	C1=CC(=CC=C1C(=O)O)[Hg]
2.	MFCD00135810	C11H17NO8	CC(=O)NC1C(C=C(OC1C(C(CO)O)O)C(=O)O)O
3.	Ethyl4-({3-[3-(3-pyridinyl)-1,2, 4-oxadiazol-5-yl]-1-azetidinyl}acetyl)-1-piperazinecarboxylate ethanedioate(1:1)	C21H26N6O8	C1COCCN1C2=NC=C(C(=N2)C3=CC=CC(=C3)CC(=O)N=C(N)N.[C@@H]([C@H](C(=O)O)O)(C(=O)O)O
4.	SCHEMBL10517801	C8H5N9O8	C1=NC(=NN1C2=C(C(=N)C(C(=C2[N+](=O)[O-])N)[N+](O=)[O-])[N+](=O)[O-][N+](=O)[O-]

Tabel 4. Senyawa *Stylissa massa* dan SMILES (lanjutan)

No	Nama Senyawa	Rumus Molekul	SMILES
5.	CHEMBL2112260	C27H29N3O7	<chem>CC(C)C(C(C(=O)O)O)NC(=O)[C@H](C1CCCC1)NC(=O)OC(C)(C)C</chem>
6.	5,5',5''-Ethane-1,1,2,2-tetrahyltetrakis (6-hydroxy-2-methyl pyramid in-4(3H)-one)	C22H22N3O8	<chem>CC1=NC(=C(C(=O)N1)C(C2=C(N=C(NC2=O)C)O)C(C3=C(N=C(NC3=O)C)O)C4=C(N=C(NC4=O)C)O)0</chem>
7.	Mycosporine glycine	C10H15NO6	<chem>COC1=C(C[C@](CC1=O)(CO)O)NCC(=O)O</chem>
8.	5-Amino-5-carboxy-2-hydroxy-1-pentene-1-diazonium	C6H10N3O3	<chem>CC(=O)OC(CC(=O)C[N+](#N))[C@@H](C(=O)O)N</chem>
9.	Trioxyethylene dimethacrylate	C10H14O7	<chem>CC(=C)C(=O)OCCOOOOC(=O)C(=C)C</chem>
10.	2-(4-Nitrophenyl)-7H-pyrazolo[4,3-e][1,2,4]triazolo[1,5-c]pyrimidine	C12H7N7O2	<chem>C1=CC(=CC=C1C2=NN3C=NC4=C(C3=N2)C=NN4)[N+](=O)[O-]</chem>
11.	Asam flufenamat	C14H10F3NO2	<chem>C1=CC=C(C(=C1)C(=O)O)NC2=CC=CC(=C2)C(F)(F)F</chem>
12.	S-[(1-Acetyl-2,2,5,5-tetramethyl-2,5-dihydro-1H-pyrrol-3-yl)methyl]methanesulfonothioate	C12H21NO3S2	<chem>CC(=O)NIC(C=C(C1(C)C)CSS(=O)(=O)C)(C)C</chem>
13.	N-(3-Methoxy-5-nitrophenyl)-2-(5-methyl-3-nitro-1H-pyrazol-1-yl)acetamide	C13H13N5O6	<chem>COC1=NN(C=C1[N+](=O)[O-])CCC(=O)NC2=CC=C(C(=C2)[N+](=O)[O-])</chem>
14.	(12,2E)-N-[(4-Methyl-5-oxido-1,2,5-oxadiazol-3-yl)oxy]-2-[(4-methyl-5-oxido-1,2,5-oxadiazol-3-yl)oxy]imino propanimidamide	C9H1N7O6	<chem>CC1=[N+](ON=C1O/N=C(\C)/C(N/OC2=NO[N+](=C2C)[O-])/N)[O-]</chem>
15.	1-[(3-(2-Methyl-1-aziridinyl)propanoyl)oxy]-2-[(3-(2-methyl-1-aziridinyl)propanoyl)oxy]methyl-2-butanyl 3-(2-methyl-1-aziridinyl)propanoate	C23H39N3O6	<chem>CCC(COC(=O)CCNICCIC)(COC(=O)CCN2CC2C)OC(=O)CCN3CC3C</chem>
16.	4-Hydroxy-3-(6-nitro-1,3-dioxo-1H-benzo[de]isoquinolin-2(3H)-yl)benzenesulfonamide	C18H11N3O7S	<chem>C1=CC2=C(C=CC3=C2C(=C1)C(=O)N(C3=O)C4=C(C=CC(=C4)S(=O)(=O)N)O)[N+](=O)[O-]</chem>
17.	1-Adamantan-1-yl-3-(8-[(1-(2-furylmethyl)-1H-tetrazol-5-yl)methyl]-8-azabicyclo[3.2.1]oct-3-yl)urea	C25H35N7O	<chem>C1CC2CC(CC1N2CC3=NN=NN3CC4=CC=CO4)NC(=O)NC56CC7CC(C5)CC(C7)C6</chem>
18.	(5-[(5-Nitroimidazo[2,1-b][1,3]thiazol-6-yl)sulfanyl]-1H-tetrazol-1-yl)asam aseta	CaH3N2O4 S2	<chem>C1=CSC2=NC(=C(N21)[N+](=O)[O-])SC3=NN=NN3CC(=O)O</chem>

Tabel 4. Senyawa *Stylissa massa* dan SMILES (lanjutan)

No	Nama Senyawa	Rumus Molekul	SMILES
19	(9Z)-9-Octadecenoic acid-2,2-bis(hydroxyl methyl)-1,3-propanediol (1:1)	C23H46O6	<chem>CCCCCCCC/C=C\CCCCCCCC(=O)O C(C(CO)(CO)CO)O</chem>
20	Hymenamide C	C43H54N8O9	<chem>CC(C)C[C@H]1C(=O)N[C@H](C(=O)N2CCC[C@H]2C(=O)N[C@H](C(=O)NCC(O)N3CCC[C@H]3C(=O)N[C@H](C(=O)NI)CCC(=O)O)CC4=CC=CC=C4)CC5=CNC6=CC=CC=C65 C1C(O1)COC(=O)C2=CC3=C(C(=C2)[N+](=O)[O-])C4=C(C3=O)C=C(C=C4[N+](=O)[O-])[N+](=O)[O-]</chem>
21	SCHEMBL11512324	C17H9N3O10	<chem>C1-CC(=CC=C1[C@H]([C@@H](CO)NC(=O)C(CI)CO)[N+](=O)[O-])C1(=NC2=NC(=N)N=C3N2C(=NC(=N3)N)N1)N</chem>
22	Kloramfenicol	C11H12Cl2N2O5	<chem>C(CCCC(=O)O)CCCC(=O)O</chem>
23	Melem	C6H6N10	<chem>CN1C(=NN=N1)SCCCOCCSC2=NN=NN2C</chem>
24	Asam azelat	C9H16O4	<chem>CC(C)(C)OC(=O)NCCCC(CC(CCN)NCCN(CCN)CCN)N</chem>
25	Compound CID: 142063383	C10 H18 N8 O S2	<chem>CCCCCCCCCN(CCC)C(=O)[C@H]1[C@@H]([C@H](C=C(O1)C(=O)O)N)NC(=O)C</chem>
26	SCHEMBL21338334	C20 H47 N7 O2	<chem>COC1=CC(=CC(=C1OC)OC)[C@H](C2CCCCC2)C(=O)N3CCCC[C@H]3C(=O)NC4(CC4)C(=O)N</chem>
27	carboxamide deriv. 4r	C21 H37 N3 O5	
28	CHEMBL3792925	C27 H39 N3 O6	

Pencarian struktur senyawa dalam bentuk SMILES telah dilakukan terhadap 28 senyawa, selanjutnya tahap pencarian senyawa yang berpotensi sebagai anti-kanker dilakukan menggunakan situs CLC-Pred (*Cell line cytotoxicity predictor*) pada ke-28 senyawa. Sepuluh senyawa memiliki aktivitas antikanker (Lampiran 7) dan satu senyawa memiliki aktivitas antikanker kolorektal. Hasil aktivitas kanker kolorektal melalui situs CLC-Pred menunjukkan bahwa asam flufenamat memiliki potensi aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker kolorektal. Hal tersebut ditunjukkan oleh nilai Pa sebesar 0,639 yang dihasilkan terhadap sel KM12. Sel KM12 merupakan jenis kanker adekarsinoma, secara histopatologi sebagian besar kanker kolon merupakan adenokarsinoma (terdiri atas epitel kelenjar) dan memiliki kemampuan menyekresi mukus dengan jumlah berbeda-beda (Padang et al., 2020). Pada website CLC-Pred nilai “Pa” (probabilitas “untuk aktif”) memberikan informasi besar kemungkinan aktivitas senyawa tersebut akan membunuh

sel kanker. Semakin tinggi nilai P_a , semakin besar kemungkinan senyawa tersebut akan membunuh sel kanker (Lagunin et al., 2018). Setelah memperoleh hasil dari CLC-Pred tahap, selanjutnya adalah melakukan prediksi protein target menggunakan *website* SEA .

4.2 Prediksi Protein Target

Tahap evaluasi senyawa spons *Stylissa* massa telah dilakukan kemudian dilakukan prediksi aktivitas senyawa antikanker menggunakan situs *SEA Search Server*. Data yang terdapat pada *SEA search server* yaitu, nilai P -value dan $MaxTC$ digunakan untuk memperkirakan aktivitas biologis senyawa terhadap protein target yang akan diuji. Semakin kecil nilai P -value maka semakin mirip antara target protein dan senyawa kimia. Tahap penapisan protein target dilakukan menggunakan situs SEA pada ke-10 senyawa menghasilkan 385 protein target (Lampiran 8). Kemudian tahap pencarian protein target kanker kolorektal dari TTD dengan kata kunci *colorectal cancer* dan ditemukan 43 protein target (Lampiran 9). Hasil penapisan dari SEA dan TTD selanjutnya dilakukan tumpang tindih menggunakan *software* Venny 2.1.0. Tahap tumpang tindih data menghasilkan 10 protein target dari 2 senyawa yaitu senyawa asam flufenamat dan MFCD00135810 disajikan pada Tabel 5. Dari 10 protein target yang telah dianalisis hanya 3 yang memenuhi kriteria untuk digunakan pada proses *docking* dengan senyawa ekstrak spons *Stylissa massa* yaitu KIT, NTRK1 dan RET.

Tabel 5. Protein target sel kanker kolorektal yang terkait dengan senyawa dari ekstrak spons *Stylissa massa*

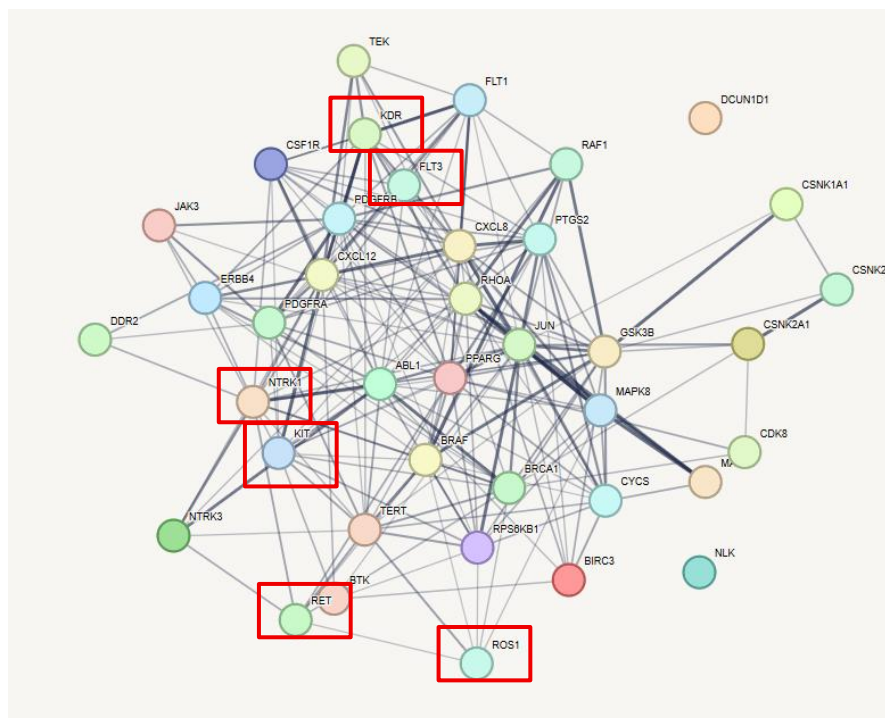
No	Protein target	Deskripsi	Nama senyawa	Rumus molekul	<i>P-value</i>	<i>MaxTC</i>
1	KDR_HUMAN	<i>Vascular endothelial growth factor receptor 2</i>	Asam Flufenamat	C14H10F3NO2	2,81E-19	0,52
2	KIT_HUMAN	<i>Mast/stem cell growth factor receptor Kit</i>			6,96E-15	0,49
3	LOXL2_HUMAN	<i>Lysyl oxidase homolog 2</i>			8,72e-09	0,29
4	NTRK2_HUMAN	<i>BDNF/NT-3 growth factors receptor</i>			9,65E-09	0,38
5	FLT3_HUMAN	<i>Receptor-type tyrosine-protein kinase FLT3</i>			3,57E-06	0,5
6	MKNK2_HUMAN	<i>MAP kinase-interacting serine/threonine-protein kinase 2</i>			3,42E-03	0,45
7	ROS1_HUMAN	<i>Proto-oncogene tyrosine-protein kinase ROS</i>			8,61E-05	0,45
8	RET_HUMAN	<i>Proto-oncogene tyrosine-protein kinase receptor Ret</i>			2,53E-04	0,45
9	NTRK1_HUMAN	<i>High affinity nerve growth factor receptor</i>			3,05E-03	0,38
10	TYMS_HUMAN	<i>Thymidylate synthase</i>	MFCD00135810	C11H17NO8	2,25E-06	0,33

Tiga Protein target yaitu KIT, RET dan NTRK1 dipilih berdasarkan pertimbangan ketersediaan ligand pada protein target, nilai Ångström <2 , memiliki interaksi pada STRING-DB dan memiliki klasifikasi transferase inhibitor. Sedangkan tujuh protein target lainnya tidak memenuhi kriteria yang diperlukan. Hal yang mendasari tidak terpilihnya protein target adalah sebagai berikut :

1. Protein target KDR dan TYMS tidak tersedia di *database* Uniprot mengakibatkan tidak adanya informasi terkait struktur ligan dari protein target. Struktur ligan penting dalam proses *docking* karena digunakan sebagai pembanding atau penambatan senyawa uji. *Website* UniPort menyediakan banyak informasi tentang protein urutan dan fungsinya, termasuk situs pengikatan ligan yang relevan secara biologis (Coudert et al., 2023). Jika suatu protein tidak terdapat dalam UniProt, maka tidak memungkinkan untuk melanjutkan interaksi molekuler. Namun, pada protein target KDR terdapat interaksi pada STRING-DB terkait kanker kolorektal.
2. Protein target LOXL2, NTRK2, dan MKNK2 tidak ditemukan dalam hasil analisis jejaring interaksi protein pada situs STRING-DB yang dikaitkan dengan kanker kolorektal. Protein dalam menjalankan fungsinya saling berinteraksi satu sama lain membentuk suatu jejaring *Protein-protein interactions* (PPI). Analisis terhadap PPI dapat digunakan untuk memperoleh biomarker potensial yang dapat menjadi target terapi (Diansyah et al., 2021).
3. Protein target FLT3 dan ROS1 memiliki interaksi pada STRING-DB terkait kanker kolorektal serta terdapat pada *database* UniProt dan memiliki ligan alami. Namun, ligan memiliki resolusi nilai diatas 2 Å, menurut (Putri et al., 2024) resolusi yang baik berada pada rentang 1,5-3 Å, karena pada rentang tersebut protein akan stabil. Struktur dengan resolusi lebih tinggi dari rentang tersebut biasanya memiliki ketidakjelasan posisi atom, yang dapat menyebabkan ketidakakuratan dalam simulasi penambatan molekul.
4. Protein target KIT, NTRK1 dan RET dapat dilanjutkan untuk *molecular docking* karena memenuhi beberapa kriteria. Ketiga protein ini memiliki struktur ligan yang tersedia di *database* UniProt yang digunakan dalam proses *docking*, struktur 3D dari protein-protein tersebut memiliki resolusi < 2 Å. Berdasarkan analisis STRING-DB ketiga protein memiliki interaksi biologis

dengan jalur kanker kolorektal, dan termasuk dalam kategori transferase inhibitor. *Protein-protein interactions* (PPI) terhadap 39 protein berinteraksi disajikan pada gambar (Gambar 6.)

Protein-protein interactions (PPI) adalah hubungan molekuler antara satu protein dengan protein lainnya yang berlangsung di dalam suatu organisme hidup. Proses ini melibatkan dua protein yang saling berikatan (Abdullah et al., 2022). PPI dapat merepresentasikan kontak fisik (*docking*) molekul antar protein yang terjadi di dalam makhluk hidup. Analisis terhadap PPI dapat digunakan untuk memperoleh biomarker potensial yang dapat menjadi target terapi (Diansyah et al., 2021). Molekul biologi seperti protein atau senyawa digambarkan dengan *nodes*, sementara interaksi antar-molekul digambarkan sebagai garis penghubung (*edges*). Garis-garis atau *edges* menggambarkan asosiasi protein-protein, sedangkan *nodes* mewakili protein yang berinteraksi (Yuniastuti et al., 2021). Analisis interaksi protein-protein menggunakan situs STRING menghasilkan 2405 *edges* (interaksi) dengan (PPI) *enrichment P-value* < 1.0e-16 (Lampiran 11) menghasilkan terhadap 383 protein target. Hasil *Protein-protein interactions* (PPI) yang berinteraksi dengan target kanker kolorektal disajikan pada gambar (Gambar 6).



Gambar 6. *Protein-protein interactions* (PPI) terhadap 39 protein berinteraksi dengan target kanker kolorektal yang ditandai dengan kotak merah

Hasil analisis protein *interactionss* dari ke-383 protein target berdasarkan *functional enrichment* menunjukkan bahwa terdapat 39 *nodes* dan 212 *edges* (jalur interaksi yang dinyatakan sebagai garis) yang saling berinteraksi dan terlibat dalam berbagai proses biologis yang terkait dengan kanker kolorektal (Tabel 6). Meskipun terdapat sebuah garis yang tidak terhubung pada interaksi string. Garis tersebut tidak dihilangkan, karena secara komputasi masih mempunyai nilai tertentu yang dapat bermanfaat bagi penelitian lanjutan (Suharini et al., 2023). Ke 50 protein target tersebut termasuk dalam 4 senyawa yang tersajikan pada Lampiran 10. Tabel 6. *Protein-protein interactionss* (PPI) terhadap 39 protein target kanker kolorektal

<i>Network Status</i>			
<i>Number of nodes</i>	: 39	<i>Expected number of edges</i>	: 77
<i>Number of edges</i>	: 212	<i>PPI enrichment p-value</i>	: <1.0e-16
<i>Avarage node degree</i>	: 10.9		
<i>Avarage local clustering coefficient</i>	: 0,534		

Hasil protein target dari STRING-DB yang memiliki interaksi dengan kanker kolorektal yaitu, FLT3, KDR, KIT, RET ROS1, dan NTRK1. Melalui penapisan SEA senyawa MFCD00135810 (2R,3R,4S)-3-acetamido-4-hydroxy-2-[(1R,2R)-1,2,3- P trihydroxypropyl]-3,4-dihydro-2H-pyran-6-carboxylic acid) mendapatkan 1 protein target . Hasil protein target dari STRING-DB yang memiliki interaksi dengan kanker kolorektal yaitu, FLT3, KDR, KIT, RET ROS1, dan NTRK1. Hasil penapisan SEA didapatkan 9 protein target untuk senyawa Asam Flufenamat. Berdasarkan pertimbangan keberadaan ligand pada protein target, nilai Ångström, interaksi STRING-DB dan klasifikasi transferase inhibitor, dipilih 3 protein target yaitu KIT, NTRK1 dan RET untuk di ujikan ke tahap *molecular docking*.

4.3 *Molecular Docking*

4.3.1 Preparasi ligan dan reseptor

Hasil penapisan terhadap protein-protein melalui *website* UniProt berupa kode PDB (*protein data bank*) didapatkan 174 protein target (Lampiran 12) yang

termasuk dalam senyawa asam flufenamat.

Tyrosine Kinase Receptor KIT merupakan salah satu target terapi molekuler dalam berbagai jenis kanker. KIT adalah inhibitor molekul kecil dan antibodi *monoclonal*, berperan pada penyakit melanoma, karsinoma sel ginjal (RCC), kanker kolorektal (CRC), seminoma, tumor sel germinal (GCT), dan kanker paru-paru. Mutasi-KIT memiliki peran yang signifikan dalam perkembangan kanker kolorektal (CRC), terutama sub tipe yang paling agresif (Abdellateif et al., 2023). Mutasi tersebut dapat memicu aktivitas jalur pensinyalan yang tidak terkendali, sehingga mendukung proliferasi sel kanker. Berdasarkan data *database* Uniprot, Protein target KIT memiliki total 43 ligan murni yang telah teridentifikasi. Dari jumlah tersebut, 11 memiliki nilai resolusi $<2 \text{ \AA}$ yang menunjukkan tingkat kestabilan struktur ligan yang baik untuk *molecular docking*. Salah satu Protein target KIT yang memenuhi kriteria adalah ligan murni dengan kode PDB ID 6MOB terdapat ligan yang dapat dilihat melalui *website* uniprot, memiliki nilai resolusi sebesar $1,80 \text{ \AA}$. Selain itu, berdasarkan klasifikasi fungsionalnya 6MOB termasuk dalam kelompok transferase inhibitor.

Neurotrophic receptor tyrosine kinase (NTRK1) Reseptor tirosin kinase memiliki peran penting dalam fisiologi perkembangan dan fungsi sistem saraf melalui aktivasi oleh neurotrofi dalam penelitian Amatu et al., (2016) reseptor NTRK1 menjadi penghambat pada kanker kolorektal. Pada penelitian Ruiz Cordero & Ng, (2020), keterlibatan NTRK1 tidak terbatas pada kanker kolorektal saja tetapi meluas ke beberapa jenis kanker lainnya seperti, kanker otak, kanker tiroid dan tumor stroma gastrointestinal. Berdasarkan data *database* Uniprot, Protein target NTRK1 memiliki total 61 ligan murni yang telah teridentifikasi. Dari jumlah tersebut, 9 memiliki nilai resolusi $<2 \text{ \AA}$. Salah satu Protein target NTRK1 yang memenuhi kriteria adalah ligan murni dengan kode PDB ID 5KMI. 5KMI memiliki kualitas resolusi yang baik sebesar $1,87 \text{ \AA}$ dan di klasifikasi sebagai transferase inhibitor.

Rearranged during transfection (RET) adalah reseptor tirosin kinase yang dalam keadaan normal berinteraksi dengan ligan di permukaan sel dan memediasi berbagai peran penting dalam berbagai proses seluler seperti proliferasi,

diferensiasi, kelangsungan hidup, migrasi, dan metabolisme. RET dapat mengobati berbagai kondisi penyakit yang disebabkan oleh degenerasi neuron atau gangguan aktivitas fungsional neuron, misalnya, penyakit Parkinson (PD), nyeri neuropatik, retinitis pigmentosa (RP), dan obesitas (Mahato & Sidorova, 2020). Septina et al., (2019), RET diketahui memiliki peran penting dalam kanker khususnya kanker tiroid. Berdasarkan dari data *database* Uniprot, protein target RET memiliki total 34 ligan murni yang telah teridentifikasi. Jumlah ligan murni yang di dapat sebanyak lima dan lima diantaranya memiliki nilai resolusi <2 Å. Salah satu protein target RET yang memenuhi kriteria adalah ligan murni dengan kode PDB ID 7JU5 memiliki nilai resolusi sebesar 1,90 Å dan termasuk dalam kelompok transferase inhibitor. Protein-protein target yang berperan dalam kanker kolorektal dan dipilih untuk diuji terdapat pada Tabel 7.

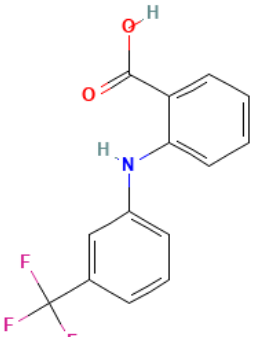
Tabel 7. Protein target kanker kolorektal yang terpilih untuk diuji.

No	Nama senyawa	Rumus molekul	Protein target	Nilai resolusi
1	Asam Flufenamat	C ₁₄ H ₁₀ F ₃ NO ₂	KIT (PDB ID:6MOB)	1,80 Å
			NTRK1 (PDB: 7JU5)	1,87 Å
			RET (PDB ID: 5KMI)	1,90 Å

4.3.2 Penambatan Molekul

Tiga protein target yang telah dipreparasi kemudian, dilakukan penambatan molekul dengan posisi *grid box* menyesuaikan konformasi ligan dan reseptor (Tabel 8). Hasil *docking* menunjukkan nilai afinitas pengikatan antara senyawa dan protein (Kusumawati et al., 2025). Hasil *docking* menunjukkan *Binding affinity* antara senyawa dan protein. *Grid box (bond area)* ditentukan untuk membatasi ruang pencarian ligan (Rendi et al., 2021). Hasil penentuan *grid box* pada *docking* disajikan pada Lampiran 13.

Tabel 8. *Molecular docking* antara ligan dan reseptor

No	Nama dan struktur ligan	Reseptor	RMSD	<i>Binding affinity</i> (kkal/mol)
1.	Asam flufenamat 	KIT (PDB ID:6MOB) NTRK1 (PDB ID: 5KMI) RET (PDB: 7JU5)	1,17Å 0.196 Å 2.836 Å	-12,5 -13,6 -7,5
	Hasil validasi RMSD	KIT (PDB ID:6MOB) NTRK1 (PDB ID: 5KMI) RET (PDB: 7JU5)	1,184 Å 0,265 Å 1,324 Å	

Berdasarkan hasil Proses *docking* protein target KIT dan NTRK1 pada tabel 8 menunjukkan hasil yang sangat baik, ditinjau dari nilai RMSD dan *binding affinity*. Nilai RMSD yang di hasilkan protein target KIT adalah 1,17 Å sedangkan untuk NTRK1 adalah 0,196 Å kedua nilai tersebut <2. bahwa posisi ligan hasil *docking*. Hasil *binding affinity* untuk KIT adalah sebesar -12,5 kkal/mol sedangkan untuk NTRK1 adalah -13,65 kkal/mol. Pada protein target RET menghasilkan nilai RMSD 2,836 Å menunjukkan hasil interaksi ligan dan protein RET yang kurang kuat dan efisien.

Tahap *docking* telah dilakukan kemudian tahap validasi RMSD (*Root Mean Squared Deviation*) menggunakan *software* PyMOL. Hasil *docking* ligan asam flufenamat (AF) terhadap reseptor KIT (6MOB), NTRK1 (5KMI), dan RET (7JU5) diperoleh nilai *binding affinity* masing-masing -12,5; -13,6; -7,5 kkal/mol. Sesuai dengan pernyataan Pradani et al., (2021) Nilai *binding affinity* dikatakan kuat apabila memperoleh nilai semakin negatif. Nilai RMSD ligan AF yang telah di *docking* terhadap ligan asli reseptor adalah 1,184 Å; 0,265 Å; 1.324 Å berurutan disajikan pada Tabel 10. RMSD adalah indikasi dari perubahan konformasi kompleks ligan-protein, Semakin rendah nilai RMSD maka semakin stabil proteinnya (Kaharudin et al., 2022). Hal tersebut sesuai dengan penelitian (Pratama et al., 2021) proses *docking* yang valid ditandai dengan nilai RSMD yang lebih kecil dari 2Å. RMSD yang kurang dari 2 Å menunjukkan parameter metode penambat-

an molekul yang digunakan memberikan hasil yang lebih mendekati hasil eksperimental (Mangande et al., 2020). Semakin besar nilai RMSD maka semakin besar pula penyimpangan yang terjadi. Maka, hasil *docking* reseptor 6MOB, 5KMI, 7JU5 dapat dinyatakan valid dikarenakan memiliki nilai RMSD kurang dari 2Å.

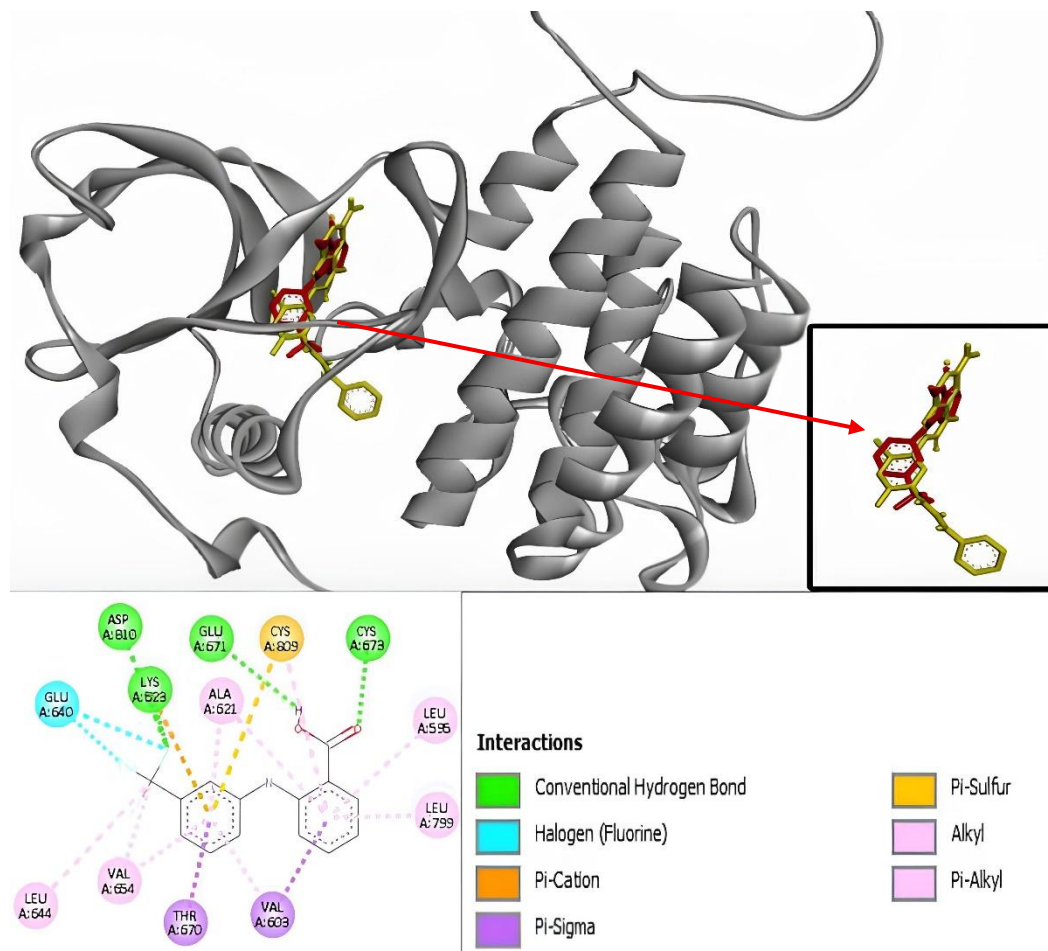
4.4 Visualisasi hasil *Molecular Docking*

Visualisasi hasil *docking* menggunakan *software Discovery studio* dilakukan untuk melihat hasil penambatan antara ligan pembanding dan ligan uji yang digunakan (Sari et al., 2020). *Binding site* protein adalah area pengikatan protein terhadap molekul-molekul dan ligan yang akan mempengaruhi konformasi maupun fungsi dari protein. Area *binding site* melibatkan residu-residu asam amino yang berperan penting pada pengikatan dengan ligan (Arwansya et al., 2014). *Binding site* tersusun dari sejumlah residu asam amino yang nantinya residu akan bertindak sebagai donor pada ligan sehingga terjadi interaksi, semakin banyak residu asam amino yang berinteraksi dengan ligan maka posisi ligan yang berikatan dengan protein akan semakin dalam ke celah sisi aktif (Rena et al., 2022). Hasil visualisasi ligan dengan protein target diperoleh dalam bentuk visualisasi 2D seperti pada gambar (Gambar 7). Hasil visualisasi menunjukkan adanya ikatan dan residu asam amino.

Interaksi yang terjadi antara ligan dan residu-residu asam amino makromolekul terbentuk disebut interaksi hidrogen, interaksi hidrofobik dan interaksi elektrostatik. Interaksi hidrogen yang terbentuk dapat berupa ikatan hidrokarbon, ikatan hidrogen konvensional dan ikatan donor pi. Interaksi elektrostatik dapat berupa pi-anion dan pi-kation. Interaksi elektrostatik dan interaksi hidrofobik mempengaruhi stabilitas ligan terhadap reseptor (Tilaqza et al., 2023).

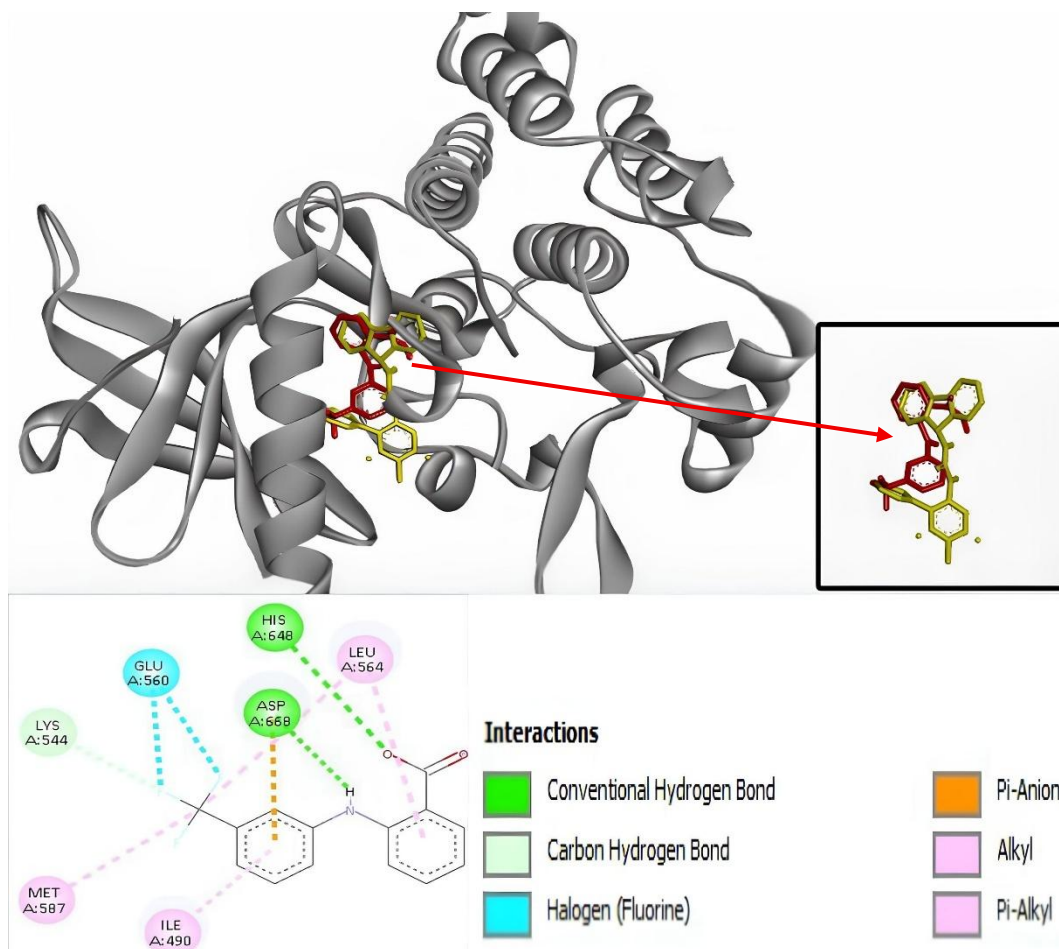
Interaksi hidrofobik merupakan interaksi yang terjadi bila dua gugus non-polar seperti gugus non polar ligan dan gugus nonpolar reseptor saling mendekat dan bergabung, sehingga molekul air menjadi kacau dan tidak dapat bergabung dengan molekul air lainnya. Interaksi hidrofobik memiliki peran dalam menentukan kekuatan interaksi (Putri et al., 2024). Interaksi hidrofobik dapat berupa pi-alkil, pi sigma, alkil, pi-stacked, dan pi T-shaped, sedangkan interaksi lainnya

berupa pi-lone pair dan interaksi halogen merupakan ikatan terkuat yang mengandung atom hidrogen. Hasil visualisasi asam flufenamat dengan Reseptor 6MOB disajikan pada gambar (Gambar 7).



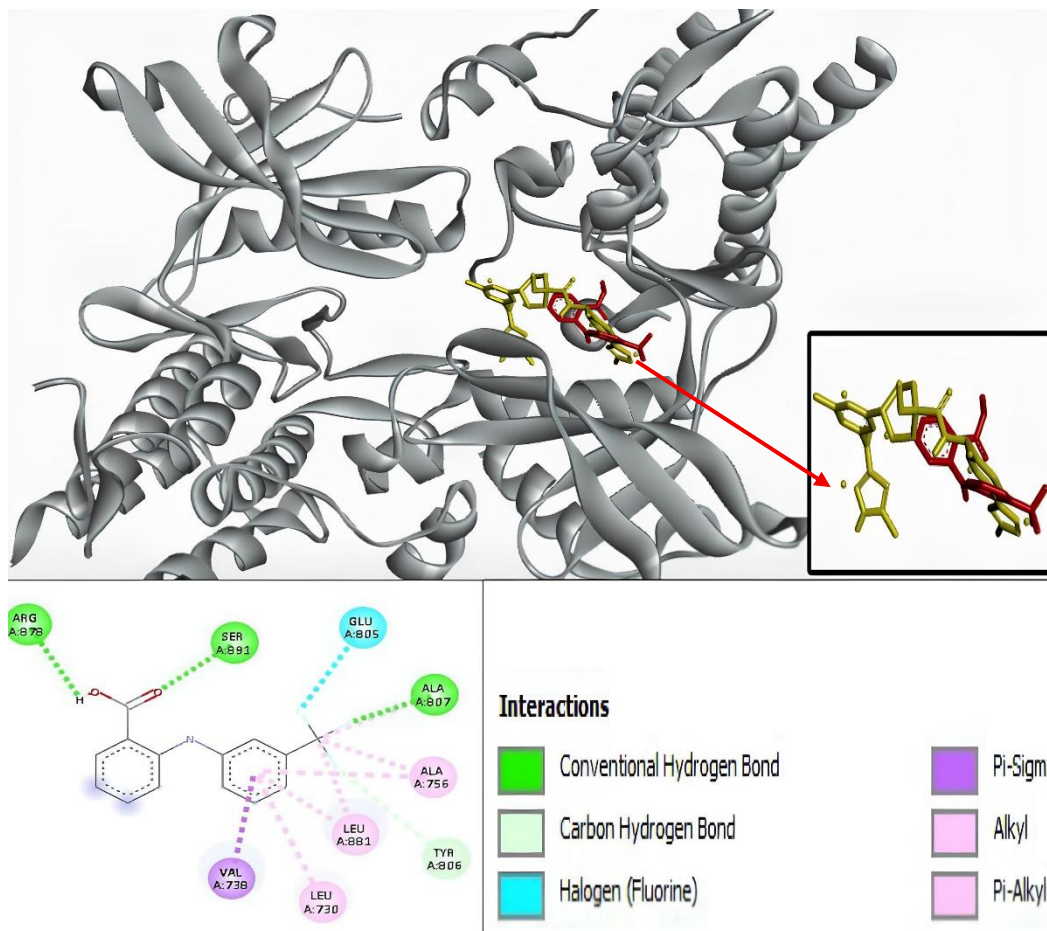
Gambar 7. Visualisasi Asam Flufenamat dengan Reseptor 6MOB

Interaksi antara asam flufenamat t dan reseptor 6MOB menghasilkan empat interaksi hidrogen yang meliputi residu asam amino ASP810, LYS623, GLU671, CYS673 dengan tipe ikatan hidrogen konvensional. Kestabilan struktur kompleks dipertahankan oleh lima ikatan hidrofobik yang meliputi residu ALA621, LEU595, LEU799, LEU644, VAL654 dengan tipe ikatan Pi-Alkyl THR670, VAL603 dengan tipe ikatan Pi-Sigma. Satu ikatan elektrostatik, yaitu residu CYS809 tipe ikatan Pi-cation. Hasil visualisasi asam flufenamat dengan reseptor 5KMI disajikan pada gambar (Gambar 8).



Gambar 8. Visualisasi Asam Flufenamat dengan Reseptor 5KMI

Interaksi antara asam flufenamat dan reseptor 5KMI menghasilkan tiga interaksi hidrogen, yang meliputi residu asam amino ASP668, HIS648 dengan tipe ikatan hidrogen konvensional. LYS544 dengan tipe ikatan hidrogen karbon. Ikatan hidrofobik terdapat tiga residu meliputi LEU564, MET587, ILE490 dengan tipe ikatan Pi-Alkyl. Hasil visualisasi asam flufenamat dengan reseptor 5KMI disajikan pada gambar (Gambar 8).



Gambar 9. Visualisasi Asam Flufenamat dengan Reseptor 7JU5

Interaksi antara asam flufenamat dan reseptor 7JU5 menghasilkan empat interaksi hidrogen yang meliputi residu asam amino ARG878, SER891, ALA807 dengan tipe ikatan hidrogen konvensional TYR806 dengan tipe ikatan hidrogen karbon. Ikatan hidrofobik terdapat empat residu yang meliputi ALA756, LEU881, LEU730, dengan tipe ikatan Pi-Alkyl dan VAL738 dengan tipe ikatan Pi-Sigma.

4.5 Prediksi Profil Fisikokimia dan Farmakokinetika

Pengujian profil fisikokimia dan profil farmakokinetika dilakukan untuk memastikan bahwa ligan uji layak untuk dilakukan penelitian lanjutan secara in vitro. Prediksi profil fisikokimia dan profil farmakokinetika dianalisa menggunakan web (<http://www.swissadme.ch/>) dengan cara memasukkan SMILE ligan uji yang didapatkan dari web (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>). web

(<http://www.swissadme.ch/>) digunakan untuk mengevaluasi sifat fisikokimia, farmakokinetik, kemiripan obat dan keramahan kimia obat dari molekul, dan untuk menetapkan profil kemiripan obat dari senyawa dengan mengintegrasikan aturan Lipinski yang memeriksa senyawa aktif secara oral (Mvondo et al., 2021). Profil fisikokimia yang dianalisa adalah kriteria lipinski (Tilaqza et al., 2023). Lipinski RO5 (*Rule of Five*) memiliki persyaratan yang terdiri dari berat molekul tidak boleh diatas 500 g/mol, nilai koefisien partisi (logP) tidak lebih dari 5, jumlah ikatan donor dan ikatan hidrogen harus kurang dari 5, dan akseptor ikatan hidrogen harus kurang dari 10 (Wulandari et al., 2023). Hasil kriteria Lipinski terhadap senyawa asam flufenamat disajikan pada tabel (Tabel 9 & Tabel 10).

Tabel 9. Kriteria Lipinski terhadap senyawa Asam Flufenamat

No	Nama	Keterangan	Kriteria Lipinski <i>Rule of Five</i> (Tilaqza et al., 2023)
1.	Berat molekul	281.23 g/mol	500 g/mol
2.	Log P	3.69	<5
3.	Jumlah akseptor ikatan hidrogen	5	<5
4.	Jumlah donor ikatan hidrogen	2	<10

Tabel 10. Prediksi profil farmakokinetika Asam Flufenamat

No	Kriteria farmakokinetika	Keterangan
1.	Absorpsi pada gastrointestinal	Tinggi
2.	Permeabilitas BBB	Ya
3.	P-gp Substrate	Tidak
4.	Cyp1A2 inhibitor	Ya
5.	Cyp2C19 inhibitor	Tidak
6.	Cyp2C9 inhibitor	Ya
7.	Cyp2D6 inhibitor	Ya
8.	Cyp3A4 inhibitor	Tidak
9.	Skor bioavailabilitas	0,85

Lipinski *Rule of Five* digunakan untuk memprediksi sifat fisikokimia suatu senyawa dalam penelitian pengembangan obat. Senyawa yang memiliki berat molekul lebih besar dari 500 g/mol sulit untuk berdifusi dalam menembus membran biologis (Lipinski et al., 2012). Nilai log P (koefisien partisi) menentukan sifat lipofilitas suatu senyawa, semakin lipofil maka semakin mudah dalam menembus membran biologis sehingga bioavailabilitas suatu senyawa obat. Jumlah donor dan akseptor hidrogen juga mempengaruhi kemampuan permeabilitas suatu se-

nyawa dalam menembus membran plasma. Jumlah donor dan akseptor hidrogen yang berlebih akan menurunkan permeabilitas senyawa dalam menembus membrane biologis dan menurunkan absorpsinya (Tilaqza et al., 2023). Parameter berat molekul <500 g/mol menunjukkan dapat menembus saluran gastrointestinal, Log P 3,69 tidak lebih dari 5, jumlah akseptor ikatan hidrogen 5, jumlah donor ikatan hidrogen 2. Berdasarkan hasil analisa sifat fisikokimia menggunakan hukum Lipinski *Rule of Five* senyawa asam flufenamat telah memenuhi parameter kelayakan standar obat oral.

Asam flufenamat merupakan asam amino aromatik yang terdiri dari asam antranilat yang membawa substituen N (trifluorometil) fenil. Efek antiinflamasi dan analgesiknya telah diketahui sejak tahun 1960-an termasuk dalam golongan obat antiinflamasi nonsteroid seperti mefenamat, meklofenamat (MFA), dan Asam niflummat (NA) (Guinamard et al., 2013). Senyawa tersebut digunakan untuk mengurangi peradangan (inflamasi), nyeri (analgesik), dan demam (antipiretik). Asam flufenamat telah digunakan sebagai agen analgesik, antiinflamasi, atau antipiretik, yang diterapkan dalam pengobatan berbagai gangguan reumatik, cedera jaringan lunak, gangguan muskuloskeletal dan sendi (Gacki et al., 2020).

Pada penelitian Hetmann et al., (2023) mengidentifikasi flufenamat sebagai kandidat *repurposing* untuk menghambat replikasi SARS-CoV-2 via metode CavitomiX. Asam flufenamat dapat berfungsi sebagai inhibitor androgen melawan kanker prostat (Féau et al., 2009). Asam flufenamat merupakan penghambat siklooksigenase dan dapat memodulasi beberapa jenis saluran ion. Asam flufenamat umumnya digunakan sebagai penghambat arus kation non-selektif, meningkatkan angiogenesis dan mendorong angiogenesis secara *in vitro* (Ge et al., 2013). Menurut penelitian Lee et al., (2011) turunan hidrofobik Asam flufenamat dapat dibentuk menjadi *nanoprodrug* stabil yang mudah diaktifkan oleh enzim hidrolitik dan menghambat pertumbuhan sel ganas, hal tersebut menunjukkan bahwa asam flufenamat berpotensi sebagai agen antikanker. Pada penelitian Kapuścińska et al., (2024) menyatakan bahwa asam flufenamat ditemukan dalam air limbah masuk dan keluar di Spanyol. Keberadaan asam flufenamat dikonfirmasi antara lain, dalam air limbah dan air permukaan di Spanyol, Jerman, Hongaria, Rumania, dan Serbia.

V SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan penelitian “Uji *In Silico* Senyawa Aktif Spons *Stylissa massa* (Carter, 1887) Terhadap Protein Sel Kanker Kolorektal” dapat disimpulkan bahwa:

1. Pada spons *Stylissa massa* ditemukan 10 senyawa yang memiliki aktivitas antikanker secara umum, salah satu senyawa yang memiliki aktivitas antikanker kolorektal adalah asam flufenamat.
2. Asam flufenamat memiliki afinitas yang kuat terhadap protein kanker kolorektal yaitu, KIT(PDB ID: 6MOB) dengan nilai RMSD 1,184 Å *binding affinity* -12,5; dan NTRK1 (PDB ID: KMI) dengan nilai RMSD 0,265 Å; *binding affinity* -13,6. Berdasarkan metode *molecular docking* hasil evaluasi farmakokinetika dan fisikokimia menunjukkan bahwa asam flufenamat memenuhi aturan Lipinski yang mengindikasikan layak sebagai kandidat obat oral.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian “Uji *In Silico* Senyawa Aktif Spons *Stylissa massa* (Carter, 1887) Terhadap Protein Sel Kanker Kolorektal”, disarankan:

1. Penelitian *in silico* perlu dilanjutkan dengan uji *in vitro* atau *in vivo* untuk mengkaji potensi spons *Stylissa massa* sebagai antikanker kolorektal.
2. *Molecular docking* dilakukan untuk memperoleh nilai RMSD dan *binding affinity* serendah mungkin.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdellateif, M. S., Bayoumi, A. K., & Mohammed, M. A. (2023). c-Kit receptors as a therapeutic target in cancer: current insights. *Oncotargets and Therapy Dove Medical Press Ltd*, 16, 785–799. <https://doi.org/10.2147/OTT.S404648>
- Abdullah, S., Kusuma, W. A., & Wijaya, S. H. (2022). Prediksi interaksi protein-protein berbasis sekuens protein menggunakan fitur autocorrelation dan machine learning. *Jurnal Teknologi dan Sistem Komputer*, 10(1), 1-11. <https://doi.org/10.14710/jtsi-skom.2022.13984>
- Afiansyah, A. G., Mardianto, R., & Salmasfatah, N. (2023). Studi *in silico* glibenclamid sebagai kandidat obat antikanker pada inhibitor map2k1 dengan metode *revers docking*. *Jurnal Riset Kesehatan Poltekkes Depkes Bandung*, 16(1), 99–107. <https://doi.org/10.34011/juriskesbdg.v16i1.2484>.
- Alfiyanti, Y. D., Ratnawati, D. E., & Anam, S. (2019). Klasifikasi fungsi senyawa aktif data berdasarkan kode simplified molecular input line entry system (SMILES) menggunakan metode modified k-nearest neighbor. *Jurnal Pengembangan Teknologi Informasi dan Ilmu Komputer*, 3(4), 3244-3251.
- Afina, C. A., & Hadisaputri, Y. E. (2018). Artikel ulasan: aktivitas antikanker spons laut kelas *calcareae*. *Jurnal Farmaka*, 16(2), 365-371
- Ahsani, D. N. (2014). Mitokondria sebagai target terapi kanker. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*, 6(1), 1–11. <https://doi.org/10.20885/JKKI-Vol6.Iss1.Art2>
- Anindita, R., Ramadhena, A. A., Perwitasari, M., Nathalia, D. D., Beandrade, M. U., & Putri, I. K. (2023). Bioprospeksi ekstrak etanol batang serai dapur *Cymbopogon citratus* (DC.) stapf sebagai antibakteri *Staphylococcus aureus* ATCC : 25923. *Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi*, 11(1), 130. <https://doi.org/10.33394/bioscientist.v11i1.7072>.
- Akl, M. R., Ayoub, N. M., Ebrahim, H. Y., Mohyeldin, M. M., Orabi, K. Y., Foudah, A. I., & Sayed, K. A. E. (2015). *Araguspongine C* induces autophagic death in breast cancer cells through suppression of c-met and HER2 receptor tyrosine kinase signalling. *Marine Drugs*, 13(1), 288-311. <https://doi.org/10.3390/md13010288>.
- Almattin, B. N., Aulifa, D. L., & Al Shofwan, A. A. (2024). Senyawa kalkon dan turunannya serta potensinya sebagai antikanker. *Indonesian Journal of Clinical Pharmacy*, 11(4), 360–375. <https://doi.org/10.15416/ijcp.20-22.11.4.360>

- Amalia, R., Hanifah, S., Hadad, N. D., Sahidin, I., & Diantini, A. (2025). Isolat senyawa dari spons laut: sitotoksitas terhadap lini sel kanker dan mekanisme kematian sel. *Indonesian Journal of Clinical Pharmacy*, 12(2), 129–143. <https://doi.org/10.15416/ijc-p.2023.12.2.60970>
- Amatu, A., Sartore-Bianchi, A., & Siena, S. (2016). NTRK gene fusions as novel targets of cancer therapy across multiple tumour types. *Esmo open*, 1(23). <https://doi.org/10.1-136/esmoopen-2015>
- Arwansyah., Ambarsari, L., & Sumaryada, T. I. (2014). Simulasi *docking* senyawa kurkumin dan analognya sebagai inhibitor reseptor androgen pada kanker prostat. *Current Biochemistry E-Issn*, 1(1), 11-19.
- Asran, Yasnaini, Rahmadani. (2018). Pengaruh kedalaman terhadap pertumbuhan Spons *Clahtria reinwardtii* yang dipelihara di permukaan kurungan dengan metode gantung. *Media Akuatika*, 3(4), 776–786.
- Beepat, S. S., Appadoo, C., Marie, D. E. P., Paula, J., & Sivakumar, K. (2013). Distribution and abundance of the sponge *Sphaciospongia vagabunda* (Ridley, 1884) (Phylum: Porifera, Class: Demospongiae) in a shallow Mauritian Lagoon. *Western Indian Ocean*, 12(1), 15-23.
- Brilliana, A., Arafah, R., Notobroto, H. B. (2017). Faktor yang berhubungan dengan perilaku ibu rumah tangga melakukan pemeriksaan payudara sendiri (Sadari). *The Indonesian Journal of Public Health*, 12(2), 143–153. <https://doi.org/10.20473/ij-ph.v12i1.2017.143-153>
- Chantarawong, W., Chamni, S., Suwanborirux, K., Saito, N., & Chanvorachote, P. (2019). 5-O Acetyl-Renieramycin T from blue sponges *Xestospongia* sp. induces lung cancer stem cell apoptosis. *Marine Drugs*, 17(2), 109. <https://doi.org/10.3-390/md17020109>.
- Coudert, E., Gehant, S., de Castro, E., Pozzato, M., Baratin, D., Neto, T., Sigrist, C. J. A., Redaschi, N., & Bridge, A. (2023). Annotation of biologically relevant ligands in UniProtKB using ChEBI. *Bioinformatics*, 39(1), 1-5. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btac793>
- Damayanti, I., Ramona, Y., & Raharjo, S. J. (2022). Mekanisme kerja antibiotik *Ceftriaxone*, *Clarithromycin*, dan senyawa aktif *Quercetin* pada *Streptococcus pneumoniae* dengan metoda *Docking In Silico*. *Metamorfosa: Journal of Biological Sciences*, 9(1), 1. <https://doi.org/10.24843/metamorfosa.2022.v09-i01.p01>
- 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).
- Diansyah, M. R., Kusuma, W. A., & Annisa, A. (2021). Identification of significant protein in protein-protein interaction of Alzheimer disease using top-k representative skyline query. *Jurnal Teknologi dan Sistem Komputer*, 9(3), 126–132. <https://doi.org/10.14710/jtsiskom.2021.13985>.

- Eltamany, E. E., Ibrahim, A. K., Radwan, M. M., ElSohly, M. A., Hassanean, H. A., dan Ahmed, S. A. (2015). Cytotoxic ceramides from the red sea sponge *Sphaciospongia vagabunda*. *Medicinal Chemistry Research*, 24(9), 3467-3473.
- 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(2), 293–305. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2005.11.001>.
- Féau, C., Arnold, L. A., Kosinski, A., Zhu, F., Connelly, M., & Guy, R. K. (2009). Novel flufenamic acid analogues as inhibitors of androgen receptor mediated transcription. *ACS Chemical Biology*, 4(10), 834–843. <https://doi.org/10.1021/cb900143a>
- Fernandez, R., Bayu, A., Hadi, T. A., Bueno, S., Perez, M., Cuevas, C., & Putra, M. Y. (2020). Unique polyhalogenated peptides from the marine sponge *Ircinia* sp., *Marine Drugs*, 18(8), 396. <https://doi.org/10.3390/md18080396>.
- Fidayat, F., Lestari, F., & Nugraha, A. H. (2021). Keanekaragaman spons pada ekosistem padang lamun di perairan Malang Rapat, Kabupaten Bintan. *Jurnal Akuatiklestari*, 4(2), 71–83. <https://doi.org/10.31629/akuatiklestari.v4i2.2469>.
- Frimayanti, N., Lukman, A., & Nathania, L. (2021). Studi *molecular docking* senyawa 1,5-benzothiazepine sebagai inhibitor dengue DEN-2 NS2B/NS3 serine protease. *Chempublish Journal*, 6(1), 54–62. <https://doi.org/10.22437/chp.v6i1.12980>.
- Fristiohady, A., & Haruna, L. A. (2020). Review jurnal: potensi spons laut sebagai anti kanker payudara. *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*, 6(01), 3052. <https://doi.org/10.35311/jmpi.v6i01.56>
- Fuad, Y. (2017). Stabilitas sistem dinamik pertumbuhan sel kanker dengan terapi radiasi. *Jurnal Ilmiah Matematika*, 3(6), 2301-9115.
- Gacki, M., Kafarska, K., Pietrzak, A., Szczesio, M., Korona-Głowniak, I., & Wolf, W. M. (2020). Transition metal complexes with flufenamic acid for pharmaceutical applications-A novel three-centered coordination polymer of Mn(II) flufenamate. *Materials*, 13(17), 3705. <https://doi.org/10.3390/MA13173705>
- Gayatri, D., Wardhani, C. T., & Nuraini, T. (2022). Perbandingan skoring kualitas hidup pasien kanker menggunakan EORTC QLQ-C30 dengan FACT-G. *Jurnal Kesehatan Vokasional*, 7(1), 61-69. <https://doi.org/10.22146/jkes-vo.64393>.
- Ge, R., Hu, L., Tai, Y., Xue, F., Yuan, L., Wei, G., & Wang, Y. (2013). Flufenamic acid promotes angiogenesis through AMPK activation. *International Journal of Oncology*, 42(6), 1945–1950. <https://doi.org/10.3892/ijo.2013.1891>
- Guinamard, R., Simard, C., & Del Negro, C. (2013). Flufenamic acid as an ion channel modulator. *Pharmacology and Therapeutics*, 138(2), 272–284. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2013.01.012>
- Haedar, Sadarun, B., Palupi, R, D. (2016). Potential of species diversity and distribution of sponges in the coastal area of Saponda Laut isle Konawe Regency. *Sapa Laut*, 1(9), 1-9.

- Hanif, A. U., Lukis, P. A., & Fadlan, A. (2020). Pengaruh minimisasi energi MMFF94 dengan MarvinSketch dan open babel PyRx pada penambatan molekular turunan oksindola tersubstitusi. *Alchemy : Journal of Chemistry*, 8(2), 33-40. <https://doi.org/10.18860/al.v8i2.10481>
- Hetmann, M., Langner, C., Durmaz, V., Cesugli, M., Köchl, K., Krassnigg, A., Blaschitz, K., Groiss, S., Loibner, M., Ruau, D., Zatloukal, K., Gruber, K., Steinkellner, G., & Gruber, C. C. (2023). Identification and validation of fusidic acid and flufenamic acid as inhibitors of SARS-CoV-2 replication using DrugSolver CavitomiX. *Scientific Reports*, 13(1), 11783. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-39071-z>
- Hermawati, E. S., Suhartana., Taslimah. (2016). Sintesis dan karakterisasi senyawa kompleks Zn(ii)-8-hidroksikuinolin. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 19(3), 94-98. <https://doi.org/10.14710/jksa.19.3.94-98>
- Ikawati, Z. (2018). *Farmakologi molekuler: target aksi obat dan mekanisme molekulernya*. Gadjah Mada University Press.
- Kaharudin, C. L., Afkauni, A. A., Pramudyansyah, A. Y., & Prasetyo, N. (2022). Penambatan molekul dan simulasi dinamika molekular kandungan minyak kayu manis dan minyak serai dapur sebagai antibakteri methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Penelitian Kimia*, 18(2), 140-147. <https://doi.org/10.20961/alchemistry.18.2.54997>
- Karim, B. K., Tsamarah, D. F., Z-ahira, A., Rosandi, N. F., Swarga, K. F., Aulifa, D. L., Elaine, A. A., & Sitinjak, B. D. P. (2023). In-Silico study of active compounds in guava leaves (*Psidium guajava* L.) as candidates for breast anticancer drugs. *Indonesian Journal of Biological Pharmacy*, 3(3), 194-209.
- Kapuścińska, D., Narajczyk, M., Liakh, I., Wielgomas, B., & Aksmann, A. (2024). Nabumetone and flufenamic acid pose a serious risk to aquatic plants: A study with *Chlamydomonas reinhardtii* as a model organism. *Chemosphere*, 349, 140853. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.140853>
- Kesuma, D., Siswandono, S., Purwanto, B. T., & Hardjono, S. (2018). Uji *in silico* aktivitas sitotoksik dan toksisitas senyawa turunan n-(benzoil)-n'- feniltiourea sebagai calon obat antikanker. *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 3(1), 1-11. <https://doi.org/10.20961/jpscr.v3i1.16266>
- Kusumawati, R. P. H., Zamani, N. P., Soedharma, D., Nurjanah, Arifin, T., Yulius, Samusamu, A. S., Akhwady, R., Ramdhan, M., Damanhuri, H., Efendi, E., Mayaguezz, H., & Muhaemin, M. (2025). Anti-breast cancer bioactive compounds and in-silico molecular prediction of *Crassostrea angulata* (Lamarck, 1819). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 28(1), 38–50. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v28i1.57937>
- Lagunin, A. A., Dubovskaja, V. I., Rudik, A. V., Pogodin, P. V., Druzhilovskiy, D. S., Gloriozova, T. A., Filimonov, D. A., Sastry, N. G., & Poroikov, V. V. (2018). CLC-cytotoxicity for drug-like compounds. *Plos One*, 13(1). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0191838>
- Lee, B.-S., Yoon, C. W., Osipov, A., Moghavem, N., Nwachokor, D., Amatya, R., Na, R., Pantoja, J. L., Pham, M. D., Black, K. L., & Yu, J. S. (2011). Nanoprodrugs of

- NSAIDs: preparation and characterization of flufenamic acid nanoprodugs. *Journal of Drug Delivery*, 2011(1), 1–13. <https://doi.org/10.1155/2011/980720>
- Leon, M., Presson, J., Kolo, S. M. D., & Pardosi, L. (2023). Uji aktivitas antibakteri fraksi diklorometana (dcm) dari ekstrak bakteri sm10 bersimbiosis spons *Stylissa massa*. *Article Journal of Chemical Science and Application*, 01, 6-12. <https://doi.org/10.32938/jcsa.v1i>.
- Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W., & Feeney, P. J. 2012. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 64, 4-17 10.1016/s0169-409x(00)00129-0
- Longakit, M. B., Sotto, F., & Kelly, M. (2005). The shallow water marine sponges (Porifera) of cebu, Philippines. *Science Diliman*, 17(2), 52-74.
- Luthfy, A. N., Kusdiyantini, E., & Budiharjo, A. (2015). Bioprospeksi bakteri yang berasosiasi dengan lamun *Enhalus acoroides* dan *syringodium isoetifolium* sebagai penghasil senyawa antibakteri. *Jurnal Akademika Biologi*, 4(4), 28-36.
- Mahato, A. K., & Sidorova, Y. A. (2020). Ret receptor tyrosine kinase: Role in neurodegeneration, obesity, and cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(19), 1–21. <https://doi.org/10.3390/ijms21197108>
- Mannelli, L. D. C., Esposito, F. P., Sangiovanni, E., Pagano, E., Mannucci, C., Polini, B., Ghelardini, C., Dell'agli, M., Izzo, A. A., Calapai, G., de Pascale, D., & Nieri, P. (2021). Pharmacological activities of extracts and compounds isolated from Mediterranean Sponge Sources. *Pharmaceuticals*, 14(12), 1329. <https://doi.org/10.3390/ph14121329>.
- Mangande, M. M., Awaluddin, A., Nur, S., & Aiyi Asnawi, dan. (2020). In silico study of *Aglycon curculigoside* a and its derivatives as α -amilase inhibitors. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology Journal*, 7(1), 29-37. <https://doi.org/10.24198/ijpst.v7i1.23062>
- Marzuki, I. (2017). Skrining spons potensial sebagai biodegradator hidrokarbon berdasarkan data morfologi. *Seminar Nasional Hasil Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat (SNP2M)*, 2, 43-38.
- Moningka, M. E. W. (2018). Perkembangan terapi kanker terkait senyawa terpineol, p53 dan caspase 3. *eBiomedik*, 7(1), 37-43. <https://doi.org/10.35790/ebm.v7i1.2-3190>
- Muttaqin, F. Z., Ismail, H., & Muhammad, H. N. (2019). Studi *molecular docking* *molecular dynamic*, dan prediksi toksisitas senyawa turunan alkaloid naftiridin sebagai inhibitor protein kasein kinase 2-A pada kanker leukemia. *Pharmacoscript*, 2(1), 49-64.
- Mvondo, J. G. M., Matondo, A., Mawete, D. T., Bambi, S.-M. N., Mbala, B. M., & Lohohola, P. O. (2021). In Silico ADME/T Properties of quinine derivatives using SwissADME and pkCSM webserver. *International Journal of Tropical Disease & Health*, 42(11), 1–12. <https://doi.org/10.9734/ijtdh/2021/v42i1130492>

- Ningrat, A. W. S. (2022). *Docking molekuler senyawa brazilein herba Caesalpina Sappanis Lignum pada Mycobacterium Tuberculosis Inha sebagai antituberkulosis. Inhealth: Indonesian Health Journal*, 1(1), 29-34.
- Nurhaniefah, A. A., Sagitasa, S., Aulia, S., & Hadisaputri, Y. E. (2022). *Callyspongia sp. : secondary metabolites, pharmacological activities, and its mechanisms. Indonesian Journal of Biological Pharmacy*, 2(2), 104-120.
- Pawar, R. P., & Rohane, S. H. (2021). Role of autodock vina in PyRx molecular docking. 14(2), 132-134. <https://doi.org/10.5958/0974-4150.2021.00024.9>
- Padang, M. S., & Rotty, L., (2020). Adenokarsinoma kolon: laporan kasus. *E-CliniC*, 8(2), 229-236. <https://doi.org/10.35790/ecl.8.2.2020.30539>
- Putra, M, Y. (2023). *Keanekaragaman senyawa bahan alam dari invertebrata laut indonesia dan potensinya sebagai bahan baku obat*. BRIN. <https://doi.org/10.559-81/brin.924>
- Putri, T. Z. A. D., Findrayani, R. P., Isrul, M., & Lolok, N. (2024). Studi *molecular docking* senyawa kimia dari herba putri malu (*Mimosa pudica*) terhadap inhibisi enzim α -glukosidase sebagai antidiabetes melitus. *Jurnal Pharmacia Mandala Wahyu*, 3(4), 225–233. <https://doi.org/10.54883/jpmw.v3i4.104>
- Putri, F, S., & Hadisaputri, Y, E. (2016). Aktivitas antikanker spons laut kelas Demospongiae. *Farmaka*, 16(2).
- Pradani, T. C., Manampiring, A. E., Kepel, B. J., Budiarmo, F. D., & Bodhi, W. (2021). *Molecular docking* terhadap senyawa kurkumin dan arturmeron pada tumbuhan kunyit (*Curcuma longa linn*) yang berpotensi menghambat virus corona. *eBiomedik*, 9(2), 208–214. <https://doi.org/10.35790/ebm.9.2.2-021.31888>
- Pratama, A. B., Herowati, R., & Ansory, H. M. (2021). Studi *docking* molekuler senyawa dalam minyak atsiri pala (*Myristica fragrans h.*) dan senyawa turunan miristisin terhadap target terapi kanker kulit. *Majalah Farmaseutik*, 17(2), 233-242. <https://doi.org/10.22146/farmaseutik.v17i2.59297>
- Pratama, F. E., & Nuwarda, R. F. (2018). Senyawa aktif antikanker dari bahan alam dan aktivitasnya. *Farmaka*, 16(1), 149-158. <https://doi.org/10.24198/jf.v16i1.1-7429>
- Presson, J., Swasono, R. T., Matsjeh, S., Putri, M. P., Az Zahra, Z., & Pardosi, L. (2021). Antimalarial activity of sea sponge extract of *Stylissa massa* originating from waters of Rote Island. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 24(4), 136–145. <https://doi.org/10.14710/jksa.24.4.136-145>.
- Rajith, D., & Ravikumar, C. (2019). SwissADME predictions of pharmacokinetics and drug-likeness properties of small molecules present in *Ipomoea mauritiana* Jacq. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 8(5), 2063-2073. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/890/1/012021>
- Rena, S. R., Nurhidayah, N., & Rustan, R. (2022). Analisis molecular docking senyawa *Garcinia mangostana* l sebagai kandidat anti SARS-CoV-2. *Jurnal Fisika Unand*, 11(1), 82–88. <https://doi.org/10.25077/jfu.11.1.82-88.2022>
- Rendi, P, I., Josephine Maranata, G., Chaerunisa, H., Nugrahaeni, N., & Sarah Alfathonah, S. (2021). Molecular docking of compounds in *Moringa oleifera lam*

- with dipeptidyl peptidase-4 receptors as antidiabetic candidates. *Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 8(3), 242.
- Rifai, A., Ulsadriatny, I., Maslukah, L., Trianto, A., Kelautan, J. (2013). Skrining beberapa jenis spons sebagai upaya pencarian bahan bioaktif antijamur *Aspergillus flavus* dan *Candida albicans*. *Buletin Oseanografi Marina Oktober*, 2(4), 25-31.
- Rozanah, A., Febrianingsih, R. I., Larasati, A. O., & Hadisaputri, Y. E. (2023). Cultivation method optimation of Demospongiae sponge and its symbiont bacteria. *Indonesian Journal of Biological Pharmacy*, 3(1), 33-41. <https://jurnal.unpad.ac.i-d/ijbp>
- Ruiz-Cordero, R., & Ng, D. L. (2020). Neurotrophic receptor tyrosine kinase (NTRK) fusions and their role in cancer. *Cancer Cytopathology*, 128(11), 775–779. <https://doi.org/10.1002/cncy.22350>
- Sayori, N., Tururaja, T. S., & Kolibongso, D. (2022). Komunitas spons (Porifera) pada ekosistem terumbu karang di Manokwari, Indonesia. *Jurnal Kelautan Tropis*, 25(3), 400–410. <https://doi.org/10.14710/jkt.v25i3.14098>.
- Sander, M. A. (2012). Profil penderita kanker kolon dan rektum di RSUP Hasan Sadikin Bandung. *Jurnal Keperawatan Universitas Muhammadiyah Malang*, 3(1).
- Sanjaya, I. W., Lestardini, A., & Bharata, M. D. Y. (2023). Karakteristik klinis pada pasien kanker kolorektal yang menjalani kolonoskopi di RSUD sanjiwani Gianyar tahun 2019-2020. *Aesculapius Medical Journal*, 3(1), 43-48.
- Santoso, W. Y. (2016). Signifikansi preventive expenditures valuation dalam bioprospeksi sumberdaya genetik di Indonesia. *Jurnal Pengelolaan Sumberdaya Alam dan Lingkungan*, 6(1), 86-86.
- Sari, I. W., Junaidin, J., & 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. <https://doi.org/10.47653/farm.v7i2.194>
- Sayuti, M., & Nouva, N. (2019). Kanker kolorektal. *Averrous: Jurnal kedokteran dan kesehatan malikussaleh*, 5(2), 76-88. <https://doi.org/10.29103/averrous.v5i2.2082>
- Septina, L., Zaid, M., Zuraidah, E., & Stephanie, A. (2019). Peran rearrangement RET/PTC pada karsinoma papiler tiroid. *Pratista Patologi*, 6(1), 70-82.
- Setiawan, F. F., & Istyastono, P. (2015). Uji *in silico* senyawa 2,6- Dihidroksiantraquinon sebagai ligan pada reseptor estrogen alfa. *Jurnal Farmasi Sains Dan Komunitas*, 12(2), 77-80.
- Setiawan, H., & Irawan, M. I. (2017). Kajian pendekatan penempatan ligan pada protein menggunakan algoritma genetika. *Jurnal Sains dan Seni ITS*, 6(2), A68-A72
- Siegel, R., Jemal, A., F., Rick Alteri, D., Bandi, P., Brooks, D., Cokkinides, V., Doroshenk, M., Gansler, T., Graves, K., Jacobs, E., Kirkland, D., Kramer, J., Levin, B., Magro, A., McCullough, M., Naishadham, D., McNeal, B., Wagner, D. (2011). Fakta & angka kanker kolorektal 2011-2013. *Atlanta*. American cancer

- society, "colorectal cancer facts & figures 2011-2013," american cancer society, atlanta, 2011. - references - scientific research publishing
- Suharini, S. Y., Ramli, M., Raya Puspipetek, J., Tangerang Selatan, K., & Banten, P. (2023). Pendekatan teori graf untuk analisis jaringan interaksi protein-protein (graph theory approach to network analysis of protein-protein interactions). *Jurnal Ilmu Pengetahuan dan Teknologi*, 7(2), 1-7. <https://doi.org/10.31543/jii.v7i2.258>
- Sukmaningrum, K., Yudistira, A., & Antasionasti, I. (2021). Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol spons (*Stylissa Sp.*) yang dikoleksi dari Teluk Manado. *Pharmakon*, 10(1), 756-761.
- Suparno., Coto, I. Z., & Hardjanto, I. (2005). Kajian bioaktif spons laut (Porifera: Demospongiae) suatu peluang alternatif pemanfaatan ekosistem karang indonesia dalam dibidang farmasi. *Oseanologi di Indonesia*, 24, 1-18.
- Swantara, I. M. D., Rita, W. S., & Hernindya, A. (2016). Identifikasi isolat antikanker spons *Hyrtios erecta*. *Indonesian Journal of Cancer*, 10(4), 123-129.
- Swantara, M. D., Rita, W. S., Suartha, N., & Agustina, K. K. (2019). Anticancer activities of toxic isolate of *Xestospongia testudinaria* sponge. *Veterinary World*, 12(9), 1434–1440. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2019.1434-1440>.
- Tariq, K., & Ghias, K. (2016). Colorectal cancer carcinogenesis: a review of mechanisms. *Cancer Biology and Medicine*, (1), 120–135. <https://doi.org/10.28-092/j.issn.2095-3941.2015.010313>
- Tilaqza, A., Herbani, M., & Aqilah, Z. (2023). Studi *docking* molekuler penghambatan reseptor neprilysin bunga lawang (*Illicium verum*) sebagai anti hipertensi dan prediksi profil farmakokinetikanya. *Jurnal Ilmiah Biosaintropis (Bioscience-Tropic)*, 9(1), 52–62. <https://doi.org/10.33474/e-jbst.v9i1.529>
- Thamrin, H., Ilmiah, K., & Tirthaningsih, N. W. (2020). Profile of colorectal tumor in gastroentero-hepatology center, department of internal medicine, Dr Soetomo Hospital, Surabaya. *Folia Medica Indonesiana*, 56(1), 15-18. <https://doi.org/10.20473/fmi.v56i1.18445>.
- Tuaputty, H., Alimudi, S., & Pi, S. (2022). *Bahan ajar biologi laut*. Deepublish.
- Tun, J. O., Salvador-Reyes, L. A., Velarde, M. C., Saito, N., Suwanborirux, K., & Concepcion, G. P. (2019). Synergistic cytotoxicity of renieramycin M and doxorubicin in MCF-7 breast cancer cells. *Marine Drugs*, 17(9), 536. <https://doi.org/10.3390/md17090536>.
- Wantah, E. D. L., Mangindaan, R. E. P., Losung2. (2018). Uji aktivitas larvasida dari beberapa ekstrak sponge terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* (test of larvacide activity from some sponge extracts to *Aedes Aegypti* Larvae. *Jurnal Ilmiah Platax*, 6(2), 83-88.
- Witanto, S., Ratnawati, D. E., & Anam, S. (2019). Pengelompokan fungsi aktif senyawa data SMILES (*Simplified Molecular Input Line Entry System*) menggunakan metode k-means dengan inisialisasi pusat kluster menggunakan metode heuristic $O(n \log N)$. *Jurnal Pengembangan Teknologi Informasi dan Ilmu Komputer*, 3(1), 702-707.

- Wulandari, P., Gabriel, K., Aulia Nurdin, H., Hauna Pakhrul, D. F., Salmandhiya Harits, S., Prameswari, N., Puteri Agustina Pribadi, A., Diah Lia Aulifa. (2023). In silico study of secondary metabolite compounds in parsley (*petroselinum crispum*) as a drug therapy for blood cancer (myeloproliferative neoplasm (mpn)) targeting jak-2. *Indonesian Journal of Chemical Science*, 12(2), 212-224.
- Wulff, J. (2010). Regeneration of sponges in ecological context: is regeneration an integral part of life history and morphological strategies? *Integrative and comparative biology*, 50(4), 494-505. doi: 10.1093/icb/icq100
- Yuniastuti, A., Susanti, R., Dewi, M., Friska, K., Cindy, S., Anik, M., & Afifah, N. A. (2021). Studi *in silico* interaksi gen reg1b dengan growth hormon (gh), insuline like growth factor (igf) dan tiroid sebagai prediktor kejadian stunting. *Prosiding Seminar Nasional Biologi*, 9, 250-255.
- Zannah, S. J., Murti, I. S., & Sulistiawati, S. (2021). Hubungan usia dengan stadium saat diagnosis penderita kanker kolorektal di RSUD Abdul Wahab Sjahranie Samarinda. *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 3(5), 701–705. <https://doi.org/10.2502-6/jsk.v3i5.629>