

Perbandingan Uji Afinitas Reseptor Estrogen terhadap Bisphenol-A dan Phloroglucinol dari *Sargassum duplicatum* dengan Metode *In silico* Comparison Affinity Test Estrogen Receptor to Bisphenol-A and Phloroglucinol from *Sargassum duplicatum* using *In silico* Method

¹Gisantya Nuansa Dwipratama, ²Diar Herawati Effendi

^{1,2}Prodi Ilmu Manajemen Komunikasi, Fakultas Ilmu Komunikasi, Universitas Islam Bandung,
Jl. Tamansari No.1 Bandung 40116
email: ¹gisantyand@gmail.com, ²diarmunawar@gmail.com

Abstract. Polycarbonate (PC) is used in producing plastic drinking bottles and known has residue classified as *endocrine disrupting chemicals* (EDCs), it is *bisphenol-A* (BPA). BPA releases as a result of bottle heating, the residues accumulated in body and causes breast cancer. Breast cancer is a result of BPA invading breast cancer cells by conquering *estrogen receptor* (ER). *Phloroglucinol* is an oligomer of *phlorotannin* classified as phenolic compounds and stated as anti-cancer. *Phloroglucinol* is isolated from brown algae *Sargassum duplicatum*. This research will be comparing affinity between ER to BPA and *phloroglucinol* by computer based methods (*In silico*). Two dimensional structure of BPA and *phloroglucinol* are illustrated using *ChemDraw Ultra 12.0* program and optimized into three dimensional structure using *Chem3D Pro 12.0* program. ER structure is downloaded from *Protein Data Bank* (PDB) (www.rcsb.org), and ER code (PDB ID : 3OLS). BPA and *phloroglucinol* are docked using *ArgusLab*[®] program. The result of docking shows affinity value (ΔG) *Phloroglucinol* with ER -6,91549 kkal/mol and BPA with ER -8,41162 kkal/mol. Lowest ΔG value found in *phloroglucinol*, has a potential as anti-cancer drug for breast cancer. Affinity comparison datas are visualized in three-dimensional structure using *Discovery Studio 2016 Client* program.

Keywords: *Bisphenol-A*, *phloroglucinol*, *ArgusLab*[®], drinking bottles.

Abstrak. Polycarbonate (PC) merupakan bahan yang digunakan dalam pembuatan botol minuman plastik dan diketahui memiliki senyawa residu yang tergolong *endocrine disrupting chemicals* (EDCs), yaitu *bisphenol-A* (BPA). BPA lepas akibat proses pemanasan pada botol, sehingga residu terakumulasi di dalam tubuh dan menyebabkan penyakit kanker payudara. Kanker payudara diakibatkan senyawa BPA menginvasi sel-sel kanker payudara dengan cara menguasai *estrogen receptor* (ER). *Phloroglucinol* merupakan oligomer penyusun *phlorotannin* yang merupakan kelompok senyawa fenolik dan dinyatakan sebagai antikanker. *Phloroglucinol* merupakan senyawa hasil isolasi dari alga coklat jenis *Sargassum duplicatum*. Pada penelitian ini akan dibandingkan afinitas ER terhadap BPA dan *phloroglucinol* dengan metode berbasis komputasi (*In silico*). Struktur dua dimensi BPA dan *phloroglucinol* digambar menggunakan program *ChemDraw Ultra 12.0* dan dioptimasi menjadi struktur tiga dimensi menggunakan program *Chem3D Pro 12.0*. Struktur ER diunduh dari *Protein Data Bank* (PDB) (www.rcsb.org), dengan kode reseptor estrogen (PDB ID : 3OLS). Senyawa BPA dan *phloroglucinol* di-docking dengan menggunakan program *ArgusLab*[®]. Hasil docking menunjukkan bahwa nilai energi bebas ikatan (ΔG) *Phloroglucinol* dengan ER -6,91549 kkal/mol dan BPA dengan ER -8,41162 kkal/mol. Nilai ΔG yang paling kecil terdapat pada *phloroglucinol*, sehingga sangat berpotensi untuk dijadikan obat antikanker payudara. Data perbandingan afinitas divisualisasi dalam bentuk gambar tiga dimensi menggunakan program *Discovery Studio 2016 Client*.

Kata Kunci: *Bisphenol-A*, *phloroglucinol*, *ArgusLab*[®], botol minuman.

A. Pendahuluan

Kanker payudara merupakan salah satu penyebab utama kematian perempuan-perempuan di dunia (Desantis, et. al., 2013). Pada umumnya kanker payudara menyerang kaum wanita, kemungkinan menyerang kaum laki-laki sangat kecil yaitu 1:1000 (Mulyani, 2013). Berdasarkan estimasi *Globocan*, *International Agency for Research on Cancer* (IARC) tahun 2012, kanker payudara adalah kanker dengan presentase kasus baru tertinggi (43,3%) dan presentase kematian tertinggi (12,9%) pada perempuan di dunia. Penyebab utama kanker payudara adalah keberadaan reseptor estrogen (ER) yang merupakan salah satu *marker* klinis paling penting dalam

kanker payudara. Salah satu senyawa yang mampu menyebabkan kanker payudara adalah *bisphenol-A* (BPA). Nanomolar dari BPA secara signifikan mampu menaikkan migrasi secara *in vitro* dan menginvasi sel-sel kanker dengan cara menguasai ER (Kim, et. al., 2015, Shi, et. al., 2014).

Senyawa *bisphenol-A* (BPA) atau *2,2-bis(4-hydroxyphenyl) propane*, merupakan salah satu dari *endocrine disrupting chemicals* (EDCs) yang dapat terakumulasi dalam tubuh akibat residu dari polimer yang terdapat pada pengemas makanan dan minuman (Le, et. al., 2008). BPA telah dicurigai sebagai salah satu penyebab kanker payudara, karena BPA mampu menginduksi transformasi neoplastik pada sel-sel epitel payudara (Fernandez and Russo, 2010) dan menaikkan proliferasi dari sel-sel MCF-7 (Keri, et. al., 2007).

Phloroglucinol merupakan oligomer penyusun *phlorotannin* dihasilkan dari alga coklat *Sargassum duplicatum* yang memiliki efek antioksidan, antibakteri, anti-inflamasi, anti-alergi, *anti-matrix metalloproteinase* (MMP), induksi apoptosis, dan sebagainya (Kim, 2015). *Phloroglucinol* memiliki potensi sebagai efek inhibisi melawan pertumbuhan sel kanker payudara MCF-7 melalui induksi apoptosis (Kim, 2015). Pemanfaatan alga coklat secara empiris belum dimaksimalkan, terutama di bidang farmasi. Salah satu pemanfaatan alga coklat yang sering dilakukan adalah pembuatan plastik *biodegradable*.

Plastik *biodegradable* adalah plastik yang dapat diuraikan kembali oleh mikroorganisme secara alami menjadi senyawa yang ramah lingkungan. Pemanfaatan alginat dari alga coklat untuk produksi plastik *biodegradable* dapat meminimalkan pemakaian plastik sintetik yang dapat mencemari lingkungan, dan dapat memanfaatkan alginat dari alga coklat secara maksimal. Salah satu cara untuk mengetahui manfaat alga coklat adalah menggunakan metode penelitian *in silico*.

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah memaksimalkan pemanfaatan alga coklat dalam bidang farmasi, terutama sebagai bahan pengganti plastik dan mengetahui afinitas *phloroglucinol* dari alga coklat terhadap reseptor estrogen (ER) yang dibandingkan dengan afinitas *bisphenol-A* terhadap reseptor estrogen (ER) menggunakan metode *in silico* serta penelitian ini bertujuan melihat keberadaan resiko cemaran BPA dalam botol minum plastik polikarbonat yang biasa digunakan.

B. Landasan Teori

Bisphenol-A (BPA) atau (*2,2-bis(4-hydroxyphenyl) propane*) merupakan senyawa sintetik dengan formula kimia $(\text{CH}_3)_2\text{C}(\text{C}_6\text{H}_4\text{OH})_2$. BPA masuk dalam kelompok derivat difenilmetana dan *bisphenol*, dengan dua kelompok hidroksifenil. Senyawa ini memiliki bentuk padat, jernih, dan mudah larut dalam pelarut organik, tapi sukar larut dalam pelarut air. BPA diproduksi dengan tujuan untuk memenuhi kebutuhan plastik tertentu dan resin epoksi. Plastik BPA terlihat jernih dan kuat, dan memiliki variasi barang dagang, seperti botol air minum, kebutuhan olahraga, CD, dan DVD. Resin epoksi yang mengandung BPA yang biasa digunakan untuk saluran pipa air, sebagai bahan pengemas berbagai makanan dan minuman kaleng dan dalam pembuatannya menggunakan *thermal paper* (kertas yang dilapisi oleh BPA) sebagai resepi (Pivnenko, et. al., 2015).

BPA dapat terakumulasi dalam tubuh dengan cara melarut dari polimer ke dalam makanan dan minuman, terutama ketika BPA yang terpapar oleh temperatur yang tinggi seperti saat perebusan dan pemanasan (Le, et. al., 2008). Karena BPA memiliki kesamaan struktur dengan estradiol (E_2), BPA dapat mempengaruhi jalur-jalur yang terhubung pada beberapa endokrin dan kemudian menjadi penyebab dari berbagai macam penyakit seperti obesitas, perilaku seksual, fungsi tiroid, kanker, dan

efek-efek neurologi (Rubin, 2011).

BPA merupakan salah satu jenis senyawa yang tergolong dalam *Endocrine Disrupting Chemical* (EDC). EDC merupakan agen eksogenus yang mampu mengganggu sintesis, sekresi, transport, metabolisme, aksi pengikatan, atau eliminasi dari hormon *blood-borne* alami yang terdapat dalam tubuh serta bertanggung jawab terhadap proses homeostasis, reproduksi, dan perkembangan. Penelitian terkini mengindikasikan bahwa BPA memiliki potensi yang sejajar dengan estradiol (Hugo, et. al., 2008, Zsarnovszky, et. al., 2005).

Saat ini, terdapat dua macam identifikasi ERs, yaitu ER alpha (ER α) dan ER beta (ER β), dimana keduanya adalah faktor transkripsi aktivasi *ligand* yang menstimulasi transkripsi gen target (Nilsson, et. al., 2001). Sebagai target terapeutik, ER α merupakan faktor yang penting untuk memprediksi prognosis kanker payudara. Sedangkan ER β dapat menghambat proliferasi dan invasi sel kanker payudara (Lazennec, 2001).

Sargassum duplicatum mengandung flavonoid, tanin, saponin, dan terpenoid (Harbone, 1996). Selain itu, *Sargassum duplicatum* juga mengandung fucoidan (Yunizal, 2003), dan komponen fenolik (Lim, et. al., 2002). Jenis komponen fenolik yang banyak dijumpai pada rumput laut coklat adalah *phlorotannin* yang berkisar antara 0,74% sampai 5,06% (Samee, et. al., 2009). *Sargassum duplicatum* memiliki aktivitas farmakologi seperti antimikroba, antibakteri, antitumor, hipertensi dan gangguan-gangguan pada kelenjar (Parven and Viqar, 2004). Aktivitas farmakologi lain dari *Sargassum duplicatum* adalah sebagai obat untuk penyakit gondok, antibakteri dan tumor (Trono and Ganzon, 1988), anti virus, dan antikanker (Khurniasari, 2004).

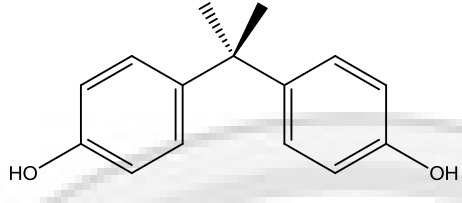
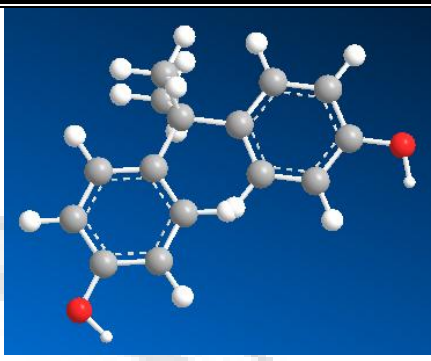
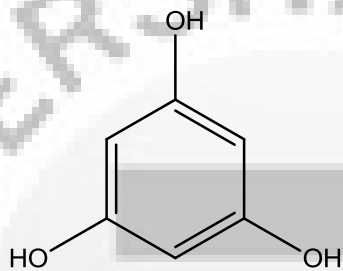
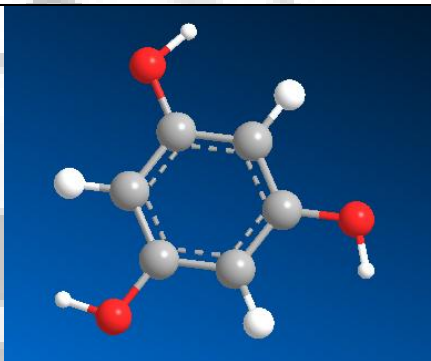
Phlorotannin adalah kelompok senyawa polifenolik disintesis oleh polimerisasi monomer *phloroglucinol* (*1,3,5-trihydroxybenzene*) melalui asetat-malonat dalam rumput laut (Ragan dan Glombitza, 1986; Arnold dan Targett, 2000; Stiger-Pouvreau et al, 2014). *Phlorotannin* banyak ditemukan pada kelompok spesies alga *sargassacean* (Kamiya, et. al., 2010). *Phlorotannin* memiliki aktivitas efek antikarsinogenik. Ekstrak *phlorotannin* (PE) dari alga coklat menunjukkan aktivitas anti-proliferatif yang tinggi pada sel-sel *hepatocellular carcinoma* (BEL-7402) dan juga pada jaringan sel leukemik (P388). Senyawa tersebut juga menunjukkan efek anti-proliferatif pada sel kanker payudara (MCF-7). Senyawa polifenol alga coklat tersebut dipercaya mampu menginhibisi aktivitas siklooksigenase-2 dan sel proliferasi dalam pencegahan perkembangan tumor (Kim, 2015).

Salah satu aplikasi kimia komputasi yang dapat diterapkan adalah kajian *Quantitative Structure-Activity Relationship* (QSAR) atau hubungan kuantitatif struktur aktivitas. Kajian ini mempelajari korelasi secara kuantitatif antara struktur molekul dan nilai aktivitas biologis yang terukur secara eksperimen. Kajian QSAR menjabarkan suatu model persamaan yang menghubungkan ketergantungan harga aktivitas suatu senyawa secara eksperimen dengan struktur molekul (Leach, 1996).

C. Hasil Penelitian dan Pembahasan

Preparasi Ligan dan Reseptor

Masing-masing senyawa uji dilakukan optimasi geometri agar diperoleh konformasi molekul yang stabil dan memiliki energi potensial rendah. Struktur molekul diperbaiki muatannya dengan menambahkan muatan parsial sebelum di-*docking*. Optimasi geometri bertujuan untuk mendapatkan posisi yang stabil pada struktur senyawa. Optimasi dilakukan menggunakan aplikasi *Chem3D Pro 12.0*.

Senyawa	Struktur 2 Dimensi	Struktur 3 Dimensi
Bisphenol-A	 The 2D chemical structure of Bisphenol-A shows two phenolic rings connected by a central carbon atom. This central carbon is also bonded to two methyl groups, one shown with a wedge bond and the other with a dash bond. Each phenolic ring has a hydroxyl group (-OH) at the para position.	 The 3D ball-and-stick model of Bisphenol-A shows the spatial arrangement of atoms. Carbon atoms are grey, hydrogen atoms are white, oxygen atoms are red, and methyl groups are shown with wedge and dash bonds to indicate their 3D orientation.
Phloroglucinol	 The 2D chemical structure of Phloroglucinol is a benzene ring with three hydroxyl groups (-OH) attached at the 1, 3, and 5 positions (meta positions).	 The 3D ball-and-stick model of Phloroglucinol shows the benzene ring and the three hydroxyl groups in their respective spatial orientations.

Gambar 1. Hasil optimasi molekul

Validasi Metode *Docking*

Pada proses validasi ini dibandingkan antara posisi ligan asli (*bisphenol-A* dan *phloroglucinol*) terhadap reseptor yang telah diuji secara eksperimental dengan posisi ligan yang sama (ligan *copy*), pada kalkulasi sumbu $X=29,1276$, $Y=31,2755$ dan $Z=11,4624$ Å dengan resolusi grid $0,4$ Å pada kondisi ligan fleksibel. Kondisi ligan fleksibel menunjukkan ligan memungkinkan untuk melakukan penyesuaian struktur demi mencapai struktur yang stabil saat berikatan dengan reseptor.

Dasar yang digunakan untuk memberikan penilaian adalah nilai RMSD (*Root Mean Square Deviation*). Metode yang digunakan dikatakan valid jika nilai RMSD yang diperoleh $\leq 2,5$ (*Arguslab Tutorial*). Berdasarkan hasil validasi ligan asli BPA dan *Phloroglucinol* terhadap ligan *copy* pada reseptor estrogen beta ($ER\beta$) diperoleh nilai RMSD $1,9$ pada kondisi ligan fleksibel. Dari hasil validasi menggunakan metode *ArgusDock* didapatkan hasil yang valid, maka parameter *docking* yang digunakan sudah memenuhi kriteria validitas metode *docking* sehingga metode *docking* ini dapat dipercaya untuk digunakan pada referensi penelitian senyawa uji selanjutnya. Semakin kecil nilai RMSD maka semakin baik metode yang dilakukan.

Proses *docking* ini dilakukan dengan menggunakan software *ArgusLab*. *ArgusLab* menyediakan dua fasilitas *docking* yaitu *GADock* dan *ArgusDock*. Kedua metode *docking* ini berbeda dalam hal pendekatan yang digunakan. Pada metode *ArgusDock* ligan hanya diarahkan pada suatu posisi tertentu dalam struktur molekul target, sedangkan pada metode *GADock* ligan diarahkan pada berbagai posisi yang

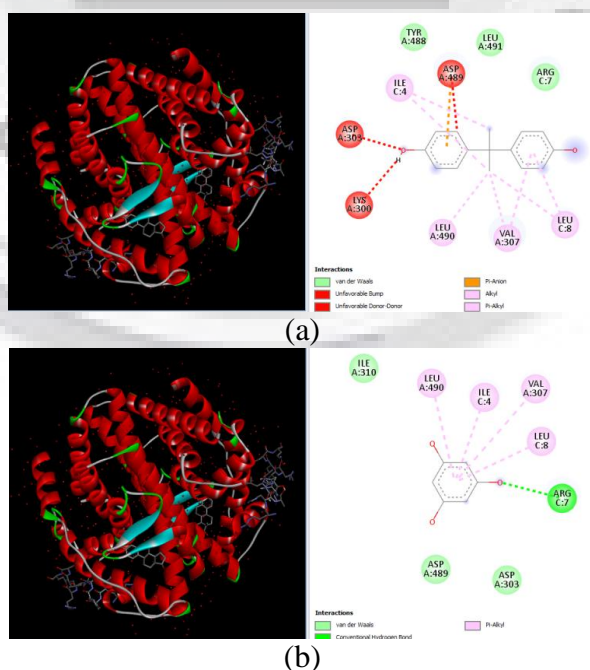
memungkinkan. Hal ini menyebabkan metode *ArgusDock* bersifat reproduibel sedangkan metode *GADock* bersifat non-reproduibel.

Proses *docking* pada penelitian ini dilakukan pada ligan *bisphenol-A* dan *phloroglucinol* yaitu terhadap reseptor estrogen beta ($ER\beta$). *Bisphenol-A* merupakan kelompok derivat difenilmetana dan *bisphenol*, dengan dua kelompok hidroksifenil yang tergolong dalam *endocrine disrupting chemicals* (EDCs) yang menjadi penyebab timbulnya penyakit kanker payudara pada wanita akibat residu hasil pemanasan dari bahan pengemas makanan dan minuman berbahan polikarbonat. Sementara *Phloroglucinol* adalah oligomer penyusun *phlorotannin* yang memiliki efek inhibisi melawan pertumbuhan sel kanker payudara MCF-7 melalui induksi apoptosis (Kim, 2015). Metode *docking* yang digunakan yaitu metode *ArgusDock* dipilih karena metode *ArgusDock* mendapatkan hasil *docking* yang bersifat reproduibel dan lebih baik dibandingkan metode *GADock*. Semua *docking* dilakukan dengan menghilangkan molekul air karena keberadaan air akan menghalangi ikatan ligan dengan reseptornya. Hasil *docking* senyawa uji dengan reseptor dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil *docking* senyawa uji terhadap reseptor estrogen beta ($ER\beta$)

No.	Senyawa Uji	ΔG (kcal/mol)	Asam amino
1.	Bisphenol-A	-5,22867	353 LYS
		-6,9928	359 ASP
		-5,70098	364 ARG
		-8,47979	411 TYR
		-8,41162	490 LEU
2.	Phloroglucinol	-6,27733	353 LYS
		-6,40739	359 ASP
		-5,35928	364 ARG
		-6,66273	411 TYR
		-6,91549	490 LEU

Sementara interaksi antara ligan dan reseptor hasil *docking* senyawa pembanding dan senyawa uji terbaik bentuk 2D dan 3D dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Interaksi 2D dan 3D reseptor estrogen beta (ER β) dengan *bisphenol-A* (A) dan *phloroglucinol* (B)

Analisis hasil *Docking*

Interaksi kontak residu yang berikatan antara ligan dengan reseptor dapat dilihat pada gambar 5.2. dengan uraian masing-masing residu yaitu interaksi senyawa *bisphenol-A* berikatan dengan asam amino 353 LYS, 359 ASP, 364 ARG, 411 TYR, dan 490 LEU (5 residu). Untuk senyawa *phloroglucinol* mempunyai interaksi dengan asam amino 353 LYS, 359 ASP, 364 ARG, 411 TYR, dan 490 LEU (5 residu). Dari hasil analisis ikatan hidrogen hasil visualisasi antara ligan dengan reseptor estrogen beta (ER β) terlihat bahwa terdapat satu interaksi ikatan hidrogen pada senyawa *phloroglucinol* (5 residu) yang ditandai dengan garis putus-putus berwarna hijau. Sementara tidak terjadi ikatan hidrogen pada interaksi senyawa *bisphenol-A* (5 residu) terhadap reseptor. Namun, keduanya memiliki ikatan *van der waals* masing-masing tiga unit.

Dalam hal ini menunjukkan bahwa senyawa *phloroglucinol* mempunyai aktivitas yang lebih baik daripada senyawa *bisphenol-A* dalam mengikat hidrogen. Hal ini sejalan dengan nilai energi bebas ikatan (ΔG) senyawa *phloroglucinol* mempunyai nilai yang lebih rendah yaitu ΔG -6,91549 kkal/mol daripada senyawa *bisphenol-A* ΔG -8,41162 kkal/mol. Dengan demikian penentuan afinitas berdasarkan nilai terendah energi bebas ikatan (ΔG) lebih diutamakan daripada jumlah ikatan hidrogen.

Uji Toksisitas

Karena nilai energi bebas ikatan (ΔG) senyawa *bisphenol-A* lebih besar daripada *phloroglucinol*, maka *bisphenol-A* memiliki ikatan yang kuat terhadap reseptornya dibandingkan *phloroglucinol*. Semakin besar energi bebas ikatan (ΔG) suatu senyawa, maka ikatannya akan semakin kuat terhadap reseptor. Apabila suatu senyawa memiliki ikatan yang kuat terhadap reseptor, maka senyawa itu dinyatakan toksik dan sulit untuk terurai dalam tubuh. Sementara bila nilai energi bebas ikatan (ΔG) suatu senyawa rendah atau mendekati afinitas terbaik ($\Delta G = -5$ kkal/mol), maka ikatannya tidak cukup kuat terhadap reseptor dan mudah terurai dalam tubuh. Sehingga, bisa dipastikan bahwa senyawa *bisphenol-A* lebih toksik daripada *phloroglucinol*.

Dari tabel 1 diketahui bahwa *phloroglucinol* mampu menghambat ikatan *bisphenol-A* terhadap reseptornya, hal itu dibuktikan dari energi bebas ikatan (ΔG) *phloroglucinol* lebih kecil daripada *bisphenol-A*. Artinya, reseptor estrogen beta (ER β) cenderung akan berikatan dengan *phloroglucinol* daripada *bisphenol-A* yang secara alamiah merupakan substrat bagi reseptor estrogen beta (ER β) sendiri. Reseptor estrogen beta (ER β) akan lebih stabil berikatan dengan *phloroglucinol* daripada *bisphenol-A* karena ikatan ligan-reseptor yang terjadi melepaskan energi yang lebih besar.

Fasilitas *docking ArgusLab* menyediakan satu fungsi perhitungan energi bebas ikatan, yaitu *Ascore*, serta hanya menampilkan interaksi berupa ikatan hidrogen. Nilai akhir energi bebas ikatan (*Ascore*) yang didapat merupakan kontribusi dari ikatan *van der waals*, hidrofobik, ikatan hidrogen dari atom-atom netral, ikatan hidrogen atom-atom bermuatan, dan jumlah ikatan berotasi. Dengan demikian penentuan afinitas berdasarkan nilai terendah energi bebas ikatan (ΔG) lebih diutamakan daripada jumlah ikatan hidrogen. Secara eksperimental energi bebas ikatan (ΔG) berhubungan langsung dengan konstanta inhibisi, dengan demikian nilai energi bebas ikatan (ΔG) dapat

digunakan untuk memprediksi kemampuan suatu senyawa untuk menghambat enzim (Rahmana et al., 2009).

D. Kesimpulan

Hasil *docking* menunjukkan bahwa nilai energi bebas ikatan (ΔG) *Phloroglucinol* dengan (ER) -6,91549 kkal/mol dan BPA dengan (ER) -8,41162 kkal/mol, menunjukkan bahwa *phloroglucinol* mempunyai afinitas lebih kecil daripada *bisphenol-A* terhadap reseptor estrogen beta (ER β), sehingga *phloroglucinol* dapat berperan sebagai obat antikanker payudara.

Daftar Pustaka

- Arnold, T. M. and Targett, N. M. 2000. *Evidence for metabolic turnover of polyphenolics in tropical brown algae*. J. Chem. Ecol., 26 : 1393-1408. DOI: 10.1023/A: 1005588023887
- Desantis, C., Ma, J., Bryan, L., Jemal, A., 2014. *Breast cancer statistics, 2013*. CA Cancer J. Clin. 64, 52–62.
- Fernandez, S. V., Russo, J. (2010). *Estrogen and xenoestrogens in breast cancer*, Toxicol. Pathol. 38 : 110-122.
- Harbone, JB. 1996. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung : ITB.
- Hugo, E.R., Brandebourg, T.D., Woo, J.G., Loftus, J., Alexander, J.W., Ben-Jonathan, N., 2008. *Bisphenol A at environmentally relevant doses inhibits adiponectin release from human adipose tissue explants and adipocytes*. Environ. Health Perspect. 116, 1642–1647.
- Kamiya, Mitsunobu; Nishio, Takeshi; Yokoyama, Asami; Yatsuya, Kousuke; Nishigaki, Tomokazu; Yoshikawa, Shinya; Ohki, Kaori. (2010). *"Seasonal variation of phlorotannin in sargassacean species from the coast of the Sea of Japan"*. Phycological Research, 58 : 53.
- Khurniasari, D. W. 2004. *Potensi antikanker Senyawa Bioaktif Ekstrak Kloroform Dan Metanol Makroalgae Sargassum duplicatum J. Agardh*. Skripsi, Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada Jogjakarta. Jogjakarta.
- Keri, R. A., Ho, S. M., Hunt, P. A., Knudsen, K. E., Soto, A. M., Prins, G.S. (2007). *An evaluation of evidence for the carcinogenic activity of bisphenol A*, Reprod. Toxicol. 24 : 240-252.
- Kim, Se Kwon, et. al. 2015. *Handbook of Anticancer Drugs from Marine Origin*. Springer: Switzerland, 9 : 177-180.
- Lazennec, G., Bresson, D., Lucas, A., Chauveau, C., Vignon, F. (2001). *Er β Inhibits proliferation and invasion of breast cancer cells*. Endocrinology 142 : 4120–4130.
- Le, H.H., Carlson, E.M., Chua, J.P., Belcher, S.M., 2008. *Bisphenol A is released from polycarbonate drinking bottles and mimics the neurotoxic actions of estrogen in developing cerebellar neurons*. Toxicol. Lett. 176, 149–156.
- Leach, A.R., 1996, *Molecular Modelling : Principles and Applications*, Addison Wisley, Longman, London.
- Lim, S. N., Cheung, P. C., Ooi, V. E., and Ang, P. O. 2002. *Evaluation of antioxidative activity of extracts from a brown seaweed, Sargassum siliquastrum*. J Agric Food Chem. 50 (13) : 3862-3866.

- Mulyani, S., 2013. *Menopause Akhir Siklus Menstruasi Pada Wanita di Usia Pertengahan*. Yogyakarta: Nuha Medika.
- Nilsson, S., Makela, S., Treuter, E., Tujague, M., Thomsen, J., Andersson, G., Enmark, E., Pettersson, K., Warner, M. Gustafsson, JA. 2001. *Mechanisms of estrogen action*. *Physiol. Rev.* 81 : 1535-1565.
- Parveen, A., and Viqar, S., 2004, *Biochemical Studies Of Some Seaweed Species From Karachi Coast*, Zoological Survey Department, Government of Pakistan, Karachi (PA); Department of Biochemistry, University of Karachi (VS). *Rec. Zool. Surv. Pakistan*, 14 : 1-4 (2002).
- Pivnenko, K.; Pedersen, G. A.; Eriksson, E.; Astrup, T. F. (2015-10-01). "*Bisphenol A and its structural analogues in household waste paper*". *Waste Management* 44 : 39–47. doi:10.1016/j.wasman.2015.07.017
- Ragan, M. A., & Glombitza, K.-W. (1986). *Phlorotannins, brown algal polyphenols*. *Progress in Phycological Research*, 4, 129–241.
- Rahmana, E.K., H. Rina, H. Nuriani, dan G. Tutus. 2009. *Docking turunan kuersetin berdasarkan studi interaksi flavonoid terhadap enzim sikloooksigenase*. *Indo. J. Chem.* 9(2):297-302.
- Röhrig, Ute F., Awad, Loay, Grosdidier, AuréLien, Larrieu, Pierre, Stroobant, Vincent, Colau, Didier, Cerundolo, Vincenzo, Simpson, Andrew J. G., et al. (2010), "*Rational Design of Indoleamine 2,3-Dioxygenase Inhibitors*", *Journal of Medicinal Chemistry*, 53 (3): 1172–89, doi:10.1021/jm9014718
- Rubin, B.S., 2011. *Bisphenol A: an endocrine disruptor with widespread exposure and multiple effects*. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 127, 27–34.
- Samee, H., Li, Z. X., Lin, H., Khalid, J., and Guo, Y. C. 2009. *Antiallergic effects of ethanol extracts from brown seaweeds*. *Journal of Zhejiang University Science B*. 10 (2) : 147-153.
- Shi, T., Zhao, C., Li, Z., Zhang, Q., Jin, X., (2014). *Bisphenol A exposure promotes the migration of NCM460 cells via estrogen receptor-mediated integrinbeta1/MMP-9 pathway*, *Environ. Toxicol.* <http://dx.doi.org/10.1002/tox.22090>.
- Snyder, L.R., dan Kirkland, J.J. (1979). *Introduction to Modern Liquid Chromatography*. Edisi 2. New York: A John Willey & Sons Inc. Hal. 16- 165.
- Stiger-Pouvreau, V., Jégou, C., Cérantola, S., Guérard, F., Le Lann, K., 2014. *Phlorotannins in Sargassaceae Species from Brittany (France)*, in : *Advances in Botanical Research*. Elsevier, pp. 379-411.
- Trono, Jr. C. C. and E. T. Ganzonfortes. 1988. *Philippine Seaweeds*. Technology and Livelihood Recourse Centre, Nat. Book Store Inc. Metro Manila, 330 pp.
- Yunizal. 2003. *Minuman sari rumput laut coklat alginat*. Dalam: Utomo, B.S.B., J. Basmal, Yunizal, Mulyasari, R. Peranginangin, T.D. Suryaningrum, Murdinah, dan S. Koeshendradjana. 2003. *Teknologi Pemanfaatan Rumput Laut*. Jakarta: Pusat Riset Pengolahan Produk dan Sosial Ekonomi Kelautan dan Perikanan. Jakarta.
- Zsarnovszky, A., Le, H.H., Wang, H.S., Belcher, S.M., 2005. *Ontogeny of rapid estrogen-mediated extracellular signal-regulated kinase signaling in the rat cerebellar cortex: potent nongenomic agonist and endocrine disrupting activity of the xenoestrogen bisphenol A*. *Endocrinology* 146, 5388–5396.