

Anti-inflammatory activity assay of ethanol extract of *Agelas cavernosa* sponge using protein denaturation method

Muhammad Walid¹, Nila Oktaviani¹, Rixzal Aziz Julian², Salis Alyatul R.², Dina Achada², Ika Vina Dika², Mahfur^{2*}

¹Program Studi D3 Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Pekalongan, Pekalongan, Indonesia

²Program Studi S1 Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Pekalongan, Pekalongan, Indonesia

Article History

Received : September 08th, 2024

Revised : September 19th, 2024

Accepted : October 13th, 2024

*Corresponding Author:

Mahfur,

Prodi S1 Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Pekalongan, Pekalongan, Indonesia.

Email: mahfur.isfa@gmail.com

Abstract: Inflammation is a tissue response to cell damage, and alternative medicine is needed to treat this like a sponge. Indonesia is a country that has a lot of biodiversity originating from the sea. *Agelas cavernosa* is a sponge of the Demospongiae class, this class is the largest class that includes 90% of all types of sponges. *Agelas Cavernosa* sponge is known to contain triterpenoids and has antibacterial activity. Data on research on the activity of *Agelas cavernosa* sponge as an anti-inflammatory as far as researchers know has not been carried out. The aim of this study was to determine the anti-inflammatory activity of the ethanol extract of the *Agelas cavernosa* sponge. The research method was carried out using the protein denaturation method. The *Agelas cavernosa* sponge extracted with ethanol 96%. The assay of anti-inflammatory with protein denaturation using spectrophotometry at wavelengths 660 nm. The results showed that the inhibition ability of 20% protein denaturation of ethanol extract of *Agelas cavernosa* was obtained at a concentration of 150 ppm. The results of the study showed that the IC₅₀ of the ethanol extract obtained was 455.96 ppm, significantly different from the positive control of sodium diclofenac, which was 36.51 ppm. Based on the data obtained from the research results, it shows that the ethanol extract of *Agelas cavernosa* sponge does not have the potential as an anti-inflammatory.

Keywords: Inflammation, Sponge, *Agelas cavernosa*, protein denaturation.

Pendahuluan

Inflamasi adalah respon jaringan oleh adanya kerusakan sel yang terjadi didalam tubuh yang disebabkan oleh disebabkan oleh bakteri, senyawa kimia, trauma mekanik dan trauma fisik (Novika et al., 2021). Beberapa tanda terjadinya inflamasi diantaranya adalah terjadinya kemerahan pada bagian kulit, muncul rasa nyeri, hilangnya rasa fungsi jaringan, munculnya edema, dan terjadi denaturasi protein pada membran (Mayer et al., 2020). Penanganan terapi pada inflamasi umumnya menggunakan obat dua golongan yaitu golongan steroid dan golongan Non-steroid. Kedua golongan tersebut merupakan jenis obat yang memiliki efek samping yang merugikan jika dikonsumsi dalam jangka

panjang seperti gangguan pada lambung dan ginjal (Sudayasa et al., 2020). Untuk mengatasi efek samping tersebut maka diperlukan pengobatan alternatif lain yang dapat mencegah terjadinya inflamasi sistemik. Salah satu pengobatan alternatif inflamasi yaitu dengan memanfaatkan sumber bahan alam yang berasal dari laut yaitu spons (Ferreira et al., 2004).

Indonesia merupakan negara dengan wilayah perairan yang lebih luas dibandingkan daratannya. Luasnya wilayah perairan tersebut membuat Indonesia memiliki banyak sekali keanekaragaman hayati yang berasal dari laut. Gili Layar merupakan salah satu pulau di Nusa Tenggara Barat yang terletak di Kabupaten Sekotong dengan luas wilayah 55 hektar yang memiliki keanekaragaman hayati seperti

terumbu karang dan ikan hias. Keanekaragaman hayati yang berasal dari laut tersebut dapat berupa alga, spons, teripang dan ikan yang memiliki banyak manfaat bagi kesehatan seperti antikanker, antibakteri, antiinflamasi, antitumor, antijamur. Spons termasuk kekayaan alam yang habitatnya mencapai 830 spesies di lautan. Adapun kelas nya terdiri dari tiga kelas yaitu kelas *Calcarea*, kelas *Demospongiae*, dan kelas *Hexactinellidae* (Marzuki, 2018). Terdapat lima belas ribuan spesies spons di dunia yang berkontribusi terhadap 45% senyawa bioaktif (Mahfur et al., 2022). Spons mengandung banyak senyawa aktif seperti golongan senyawa alkaloid, senyawa steroid, senyawa terpenoid, dan flavonoid yang menjadikannya kandidat obat potensial (Mahfur et al., 2022).

Spons *Agelas cavernosa* termasuk dalam *Demospongiae*. Kelas tersebut merupakan jenis spons yang terbesar dibanding dengan kelas yang lain (Sauleau et al., 2017). Spons *Agelas cavernosa* diketahui mengandung triterpenoid yang merupakan turunan dari golongan alkaloid (Muñoz & Köck, 2016). Lebih dari 20.000 triterpenoid alami menunjukkan beberapa aktivitas bioaktivitas yang bervariasi seperti antikanker, antimalaria, anti-HIV, menghambat aktivasi HIF-1, antibakteri, kemopreventif, anti-inflamasi, antioksidan, kardioprotektif, insektisida, antidiabetik, sitotoksik (Mahfur, Wahyuono, et al., 2022; Pallela & Ehrlich, 2016). Penelitian dari Abdjul et al (2015) dan Aristyawan, A. D., dkk (2017) menyatakan bahwa Spons *Agelas cavernosa* memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Data tentang penelitian aktivitas spons *Agela cavernosa* sebagai antiinflamasi sejauh peneliti ketahui belum dilakukan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antiinflamasi dari ekstrak Spons *Agelas cavernosa* dengan menggunakan metode denaturasi protein.

Bahan dan Metode

Bahan Penelitian

Bahan penelitian yang digunakan adalah Spons *Agelas cavernosa* koleksi Dr. apt. Mahfur, M. Farm yang diambil dari Gili Layan NTB, Indonesia, etanol 96%, protein albumin dari telur ayam, Trisbase, Trisbuffersaline, Natrium

diklofenak, dimetil sulfoksida (DMSO), aquadest.

Metode Penelitian

Identifikasi Spons

Sampel spons yang digunakan diidentifikasi di Laboratorium produk alam laut, Universitas Diponegoro, Semarang, Indonesia.

Ekstraksi Spons *Agelas cavernosa*

Sampel spons *Agelas cavernosa* di ekstraksi dengan metode maserasi dengan etanol 96% pada suhu kamar selama 24 jam. Proses ini diulang dengan pelarut yang sama sebanyak 3 kali. Ekstrak etanol yang telah didapat di uapkan menggunakan rotary evaporator vakum hingga diperoleh ekstrak kental yang kemudian dikeringkan menggunakan waterbath dan dihitung rendemennya (Mukhriani, 2014).

Ekstraksi protein albumin dari telur ayam

Sebanyak 10 gram putih telur yang telah dipisahkan dengan kuning nya ditimbang, dan dimasukkan kedalam gelas kimia kemudian dstirer selama 1 menit. Ditambahkan akuadestsebanyak 50 ml, dan distirer Kembali selama 5 menit. Campuran tersebut kemudian di sentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm. Bagian supernatant diambil, dan selanjutnya disebut sebagai larutan albumin telur yang akan digunakan dalam penelitian ini.

Uji Aktivitas antiinflamasi

Sebanyak 2ml dari larutan sampel ekstrak dengan konsentrasi 50µg/mL, 100µg/mL, 150µg/mL, 200µg/mL, dan 250 µg/mL dan kontrol positif Na diklofenak dengan konsentrasi 3,12µg/mL; 6,25µg/mL; 12,5µg/mL; 25µg/mL; dan 50 µg/mL ditambahkan 0,2 ml albumin telur. Ditambahkan Tris Buffer Saline (TBS) sebanyak 2,8 mL sehingga total larutan berjumlah sebanyak 5mL. larutan yang diperoleh diinkubasi pada suhu 37°C selama 20 menit. Kemudian dipanaskan pada suhu 70°C selama lima menit. Proses ini merupakan titik kritis karena akan terjadi denaturasi protein. kemudian didinginkan pada suhu kamar selama 15 menit dilanjutkan dengan divortex dan diukur absorbansi pada spektrofotometri UV-visible dengan panjang gelombang 660nm. Pengujian dilakukan dengan

3kali replikasi. Perhitungan aktifitas diukur dengan menggunakan rumus berikut:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{absorbansi kontrol negatif} - \text{absorbansi larutan uji}}{\text{absorbansi kontrol negatif}} \times 100\%$$

Analisis data

Data hasil penelitian ini dianalisis untuk mengetahui nilai konsentrasi penghambatan 50% (IC₅₀) yaitu dengan membuat persamaan regresi linear antara konsentrasi dengan % penghambatan. Perhitungan nilai IC₅₀ dilakukan pada sampel ekstrak etanol spons *Agelas cavernosa* dan pada kontrol positif natrium diklofenak.

Hasil dan Pembahasan

Identifikasi Spons

Berdasarkan hasil analisis dari laboratorium menunjukkan spons yang digunakan adalah spons *Agelas cavernosa* dengan susunan taksonomi masuk dalam kelas *Demospongiae*.

Ekstraksi Spons *Agelas cavernosa*

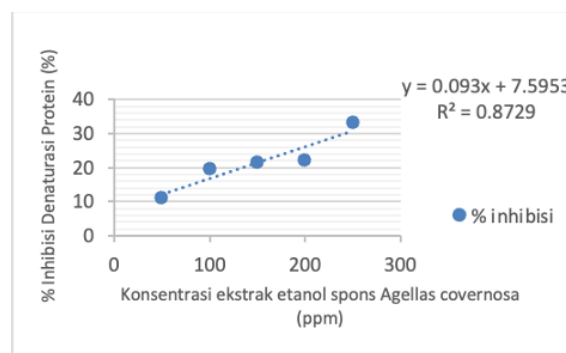
Spons *Agelas cavernosa* sebanyak 408,87 gram berat basah diekstraksi dengan metode perendaman (maserasi) menggunakan pelarut etanol 96%. Berat ekstrak yang diperoleh sebanyak 11,82 gram, sehingga rendemen yang diperoleh adalah 2,89% terhadap berat basah sampel.

Uji Aktivitas antiinflamasi

Hasil uji penghambatan denaturasi protein sebagai mekanisme antiinflamasi ekstrak etanol spons *Agelas cavernosa* ditampilkan pada Tabel 1. Hasil tersebut menunjukkan bahwa persen penghambatan denaturasi protein ekstrak etanol spons *Agelas cavernosa* pada konsentrasi 50 µg/mL, 100 µg/mL, 150 µg/mL, 200 µg/mL dan 250 µg/mL memiliki persentase inhibisi denaturasi protein sebesar 11,23%, 19,59%, 21,61%, 22,03%, dan 33,26%. Adapun persamaan regresi yang diperoleh ditampilkan pada gambar 1. Adapun hasil pengujian aktivitas penghambatan proses denaturasi protein Na. diklofenak sebagai pembanding dapat dilihat pada Tabel 2 dan persamaan regresi yang diperoleh dapat dilihat pada Gambar 2.

Tabel 1. Data aktivitas ekstrak etanol spons *Agelas cavernosa* terhadap % penghambatan denaturasi protein

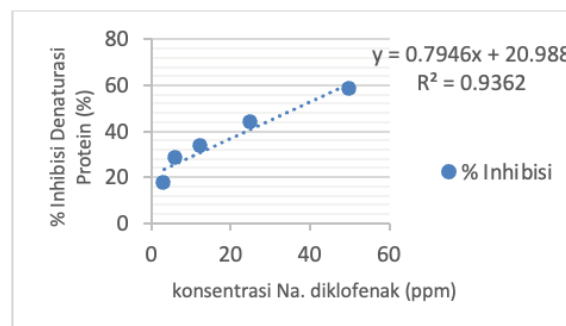
No.	Konsentrasi sampel (ppm)	% inhibisi (%)
1	50	11,23
2	100	19,59
3	150	21,61
4	200	22,03
5	250	33,26



Gambar 1. Grafik regresi linier antara konsentrasi ekstrak vs % Inhibisi denaturasi protein

Tabel 2. Data aktivitas Na. diklofenak terhadap % penghambatan denaturasi protein

No.	Konsentrasi sampel (ppm)	% inhibisi (%)
1	3.125	17.55
2	6.25	28.19
3	12.5	33.51
4	25	44.15
5	50	58.51



Gambar 2. Grafik regresi linier antara konsentrasi Na. Diklofenak vs % Inhibisi denaturasi protein

Analisis data

Berdasarkan analisis data perhitungan penghambatan 50% terhadap proses denaturasi protein konsentrasi yang diperoleh dari sampel ekstrak dan kontrol positif dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Nilai IC₅₀ aktivitas antiinflamasi ekstrak dan Na. diklofenak

No	Sampel	Nilai IC ₅₀ (ppm)	Keterangan
1.	Ekstrak <i>Agelas cavernosa</i>	455,96	Kategori tidak aktif
2.	Na. diklofenak	36,51	poten

Pembahasan

Identifikasi Spons

Hasil analisis yang diperoleh menunjukkan bahwa sampel spons merupakan spons *Agelas cavernosa*. Hal tersebut berkesesuaian dengan referensi yang sudah ada yaitu di kepulauan Lombok Indonesia banyak memiliki keanekaragaman sponge yang masuk dalam famili *Demospongiae* (Kurnianda et al., 2018; Pham et al., 2013; Van Soest, 1989).

Ekstraksi spons

Jumlah rendemen yang diperoleh pada proses ekstraksi sebesar 2,89% terhadap berat basah sampel spons. Penelitian- penelitian yang sebelumnya juga memperoleh hasil yang tidak jauh berbeda Ranatunga et al. (2023) melakukan ekstraksi sampel spons dengan hasil rendemen sejumlah 4%, sedangkan penelitian Setyowati et al. (2007) memperoleh rendemen sebesar 2,87%.

Uji aktivitas antiinflamasi

Pengujian pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan protein albumin dari telur ayam. Hal ini dikarenakan penggunaan albumin telur lebih efisien dan proses denaturasi protein yang akan dihasilkan lebih terlihat jelas dibandingkan dengan protein yang lain. Menurut Loizou et al. (2010) sampel yang mempunyai potensi sebagai antiinflamasi adalah yang dapat menstabilkan proses denaturasi protein. Proses penghambatan denaturasi tersebut terjadi dikarenakan adanya interaksi antara albumin dan senyawa aktif yang dimiliki sampel yang membuat ikatan dengan tirosin, treosin dan lisin. Ketika senyawa aktif bereaksi dan berikatan dengan protein tersebut maka proses denaturasi albumin dapat dicegah (Novika et al., 2021). Pengujian ini dilakukan pada sampel dan kontrol positif.

Aktivitas penghambatan denaturasi protein sampel spons *Agelas cavernosa*

dilakukan dengan konsentrasi 50 µg/mL, 100 µg/mL, 150 µg/mL, 200 µg/mL dan 250 µg/mL. Sedangkan konsentrasi yang digunakan pada Na. diklofenak adalah 3,12 µg/mL, 6,25 µg/mL, 12,5 µg/mL, 25 µg/mL, dan 50 µg/mL. Konsentrasi yang digunakan antara sampel ekstrak dan kontrol positif natrium diklofenak dibedakan karena potensi dari sampel belum diketahui, sedangkan potensi Na. diklofenak potensial. Sampel ekstrak yang mempunyai kemampuan menghambat denaturasi protein lebih dari 20% dengan konsentrasi lebih kecil dibandingkan dengan natrium diklofenak, maka sampel ekstrak tersebut dapat disimpulkan sangat berpotensi sebagai antiinflamasi, karena kemampuan penghambatan denaturasi protein nya baik. Kemampuan tersebut dapat mengurangi efek samping penggunaan obat antiinflamasi Na. diklofenak (Yadav & Mohite, 2020; Yasothkumar et al., 2023).

Penelitian sebelumnya menyatakan bahwa potensi antiinflamasi suatu ekstrak dapat diketahui jika mampu menghambat denaturasi protein sebanyak 20% (Nasution et al., 2019). Berdasarkan data yang diperoleh ekstrak etanol spons dapat menghambat proses denaturasi pada konsentrasi diatas 150 ppm. Konsentrasi tersebut termasuk dalam kategori konsentrasi yang tidak potensial sebagai aktivitas farmakologis. Apabila dibandingkan dengan kemampuan kontrol positif yaitu Na. diklofenak, ada perbedaan yang signifikan dari data penghambatan denaturasi protein yang diperoleh.

Denaturasi protein merupakan tahapan perubahan struktur protein yang disebabkan oleh factor eksternal (Muliati, 2014). Faktor yang mempengaruhi diantaranya adalah suhu, pH, reaksi dengan logam berat dan factor lingkungan (Souza et al., 2020).

Penghambatan denaturasi protein ekstrak etanol spons yang diperoleh diduga karena adanya metabolit sekunder dalam ekstrak etanol spons *Agelas cavernosa*. Metabolit senyawa yang dimiliki oleh ekstrak diantaranya adalah flavonoid, terpenoid dan steroid. Metabolit tersebut dapat menghambat proses denaturasi protein dengan mekanisme yang berbeda beda. Flavonoid menghambat denaturasi protein dengan cara menghambat proses pembentukan radikal bebas yang menjadi sebab terjadinya peradangan atau inflamasi (Laksmitawati &

Tiffani, 2020). Jalur biosintesis eikosanoid yang dapat menjadi pemicu aktif nya mediator inflamasi dihambat oleh flavonoid, sehingga proses inflamasi tidak terjadi.

Mekanisme penghambatan denaturasi protein oleh steroid dengan cara sel-sel sumber prostaglandin yang mengakibatkan pembentukan histamin dihambat untuk berproduksi (Shalihah et al., 2022). Senyawa metabolit sekunder yang memiliki gugus OH memiliki potensi sebagai antiinflamasi, karena gugus OH memiliki fungsi pelindung membran, dan menetralkan radikal bebas (Goh et al., 2022).

Kesimpulan

Berdasarkan data yang diperoleh dari hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol spons *Agelas cavernosa* tidak berpotensi sebagai antiinflamasi karena memiliki IC₅₀ 455,96 ppm yang berbeda signifikan dengan natrium diklofenak.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat (LPPM) Universitas Pekalongan atas hibah dengan no. 081/B.06.01/LPPM/II/2024.

Referensi

- Abdul, D. B., Yamazaki, H., Ukai, K., & Namikoshi, M. (2015). Two new indole derivatives from a marine sponge *Ircinia* sp. collected at Iriomote Island. *Journal of Natural Medicines*, 69(3), 416–420. <https://doi.org/10.1007/s11418-015-0891-y>
- Ferreira, M. A. N. D., Barcelos, L. S., Campos, P. P., Vasconcelos, A. C., Teixeira, M. M., & Andrade, S. P. (2004). Sponge-induced angiogenesis and inflammation in PAF receptor-deficient mice (PAFR-KO). *British Journal of Pharmacology*, 141(7), 1185–1192. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0705731>
- Goh, Y. X., Jalil, J., Lam, K. W., Husain, K., & Premakumar, C. M. (2022). Genistein: A Review on its Anti-Inflammatory Properties. In *Frontiers in Pharmacology*

- (Vol. 13). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.820969>
- Kurnianda, V., Syahliza, F., Karina, S., Agustina, S., Ulfah, M., Octavina, C., Mardiah, A., Ramadhan, M. R., & Purnawan, S. (2018). Araguspongine: An indole alkaloid as pnc-1 cell inhibitory adapted to nutrient starvation from Indonesian's marine sponge *spongionellapulchella*. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 216(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/216/1/012041>
- Laksmitawati, D. R., & Tiffani, C. (2020). Aktivitas Penghambatan Denaturasi Albumin dan Efek Anti-Inflamasi Campuran Ekstrak Herba Meniran, Daun Kelor, Daun Salam. *Majalah Farmasetika.*, 4. <https://doi.org/10.24198/mfarmasetika.v4i0.25890>
- Loizou, S., Lekakis, I., Chrousos, G. P., & Moutsatsou, P. (2010). β -Sitosterol exhibits anti-inflammatory activity in human aortic endothelial cells. *Molecular Nutrition and Food Research*, 54(4), 551–558. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200900012>
- Mahfur, M., Setyowati, E. P., Wahyuono, S., & Purwantini, I. (2022). Sponge *Hyrtios reticulatus*: Phytochemicals and Bioactivities. *Research J. Pharm. and Tech.*, 15(June), 1–7.
- Mahfur, M., Wahyuono, S., Purwantini, I., & Setyowati, E. P. (2022). In vitro antiplasmodial activities of the fractions of *Hyrtios reticulatus* sponge extract. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 12(9), 114–120. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2022.120913>
- Marzuki, I. (2018). *Eksplorasi Spons Indonesia: Seputar Kepulauan Spermonde* (Vol. 1). <https://doi.org/10.17605/OSF.IO/VP369>
- Mayer, A. M. S., Rodr, A. D., Tagliatela-scafati, O., & Fusetani, N. (2020). Marine Pharmacology in 2014–2015: Marine Compounds with Antibacterial, Antidiabetic, Antifungal, Anti-Inflammatory, Antiprotozoal, Antituberculosis, Antiviral, and Anthelmintic Activities; Affecting the Immune and Nervous Systems, and Other

- Miscellaneous. *Marine Drugs*, 18(1), 1–61. <https://doi.org/10.3390/md18010005>
- Mukhriani. (2014). Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *J. Kesehatan*, VII (2), 361. <https://doi.org/10.1007/s11293-018-9601-y>
- Muliati, F. (2014). Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Daun Paku *Pyrrosia Lanceolata* (L.) Farw. Terhadap Penghambatan Denaturasi Protein Secara In Vitro. Nsyarif Hidayatullah.
- Muñoz, J., & Köck, M. (2016). Hybrid Pyrrole-Imidazole Alkaloids from the Sponge *Agelas sceptrum*. *Journal of Natural Products*, 79(2), 434–437. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.5b00265>
- Nasution, N. A., Nurilmala, M., & Abdullah, A. (2019). Seahorse Hydrolysis (Hippocampus kuda) and Anti-Inflammatory Activity Test with Protein Denaturation Inhibition Method. *Jurnal Perikanan Universitas Gadjah Mada*, 21(1), 47. <https://doi.org/10.22146/jfs.43699>
- Novika, D. S., Ahsanunnisa, R., & Yani, D. F. (2021). Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Terhadap Penghambatan Denaturasi Protein. *Stannum: Jurnal Sains Dan Terapan Kimia*, 3(1), 16–22. <https://doi.org/10.33019/jstk.v3i1.2117>
- Pallela, R., & Ehrlich, H. (2016). Marine sponges: Chemicobiological and biomedical applications. In *Marine Sponges: Chemicobiological and Biomedical Applications*. <https://doi.org/10.1007/978-81-322-2794-6>
- Pham, C. D., Hartmann, R., Müller, W. E. G., De Voogd, N., Lai, D., & Proksch, P. (2013). Aaptamine derivatives from the Indonesian sponge *Aaptos suberitoides*. *Journal of Natural Products*, 76(1), 103–106. <https://doi.org/10.1021/np300794b>
- Ranatunga, N. P., Kurupparachchi, K. A. S. U., & Gunathilake, K. V. K. (2023). Anti-inflammatory, Anti-oxidant and Cytogenotoxicity of *Axinella* sp., a Marine Sponge Extract. *Sri Lankan Journal of Biology*, 8(2), 20–31. <https://doi.org/10.4038/sljb.v8i2.107>
- Sauleau, P., Moriou, C., & Al Mourabit, A. (2017). Metabolomics approach to chemical diversity of the Mediterranean marine sponge *Agelas oroides*. *Natural Product Research*, 31(14), 1625–1632. <https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1285298>
- Setyowati, E. P., Jenie, U. A., Kardono, B., Rahmat, R., & Meiyanto, E. (2007). Isolasi Senyawa Sitotoksik Spons Kaliapsis Isolation of Cytotoxic Substance from Kaliapsis sponge. *Jurnal Makalah Indonesia*, 18(4), 183–189.
- Shalihah, A., Christianty, F. M., & Fajrin, F. A. (2022). Anti inflammatory Activity of the Ethanol Extract of Cinnamon (*Cinnamomum burmannii*) Bark using Membrane Stabilization Method and Protein Denaturation. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 1, 9. <https://doi.org/10.24198/ijpst.v1i1.36323>
- Souza, C. R. M., Bezerra, W. P., & Souto, J. T. (2020). Marine alkaloids with anti-inflammatory activity: Current knowledge and future perspectives. *Marine Drugs*, 18(3). <https://doi.org/10.3390/md18030147>
- Sudayasa, I., Fristiohady, A., Wahyuni, Sadarun, B., Bafadal, M., Purnama, L. O. M., Rahmatika, N., Kalimin, W. O. I. L., & Sahidin, I. (2020). Effect of Extract Marine Sponge *Xestospongia* sp. and *Aaptos* sp. on the Plasma IL-1 β Level in Inflammatory Model Rats: Time Dependent. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 13, 5455–5458.
- Van Soest, R. W. M. (1989). The Indonesian sponge fauna: A status report. *Netherlands Journal of Sea Research*, 23(2), 223–230. [https://doi.org/10.1016/0077-7579\(89\)90016-1](https://doi.org/10.1016/0077-7579(89)90016-1)
- Yadav, A. R., & Mohite, S. K. (2020). Screening of In-vitro anti-inflammatory and Antibacterial assay of *Malvastrum Coromandelianum*. *International Journal of Pharma Sciences and Research*, 11(4), 68–70.
- Yasothkumar, D., Jayaraman, S., Ramalingam, K., & Ramani, P. (2023). In vitro Anti-Inflammatory and Antioxidant Activity of Seed Ethanolic Extract of *Pongamia*

pinnata. *Biomedical and Pharmacology
Journal*, 16(4), 2187–2193.
<https://doi.org/10.13005/bpj/2795>