

Pendekatan Multi-Omics untuk Eksplorasi Senyawa Antikanker Fungi Endofit

Elfira Jumrah¹*

¹Jurusan Kimia, Universitas Negeri Makassar, Makassar, Indonesia

ABSTRACT

Kanker masih menjadi salah satu penyebab utama kematian global, sementara terapi konvensional sering menghadapi kendala berupa resistensi obat, toksisitas, dan rendahnya selektivitas. Fungi endofit merupakan sumber potensial senyawa antikanker karena kemampuannya menghasilkan beragam metabolit sekunder bioaktif. Namun, sebagian besar potensi biosintesisnya belum terungkap akibat keberadaan biosynthetic gene clusters (BGCs) yang bersifat kriptik. Artikel review ini bertujuan mengevaluasi peran genomics, transcriptomics, proteomics, metabolomics, dan epigenomics dalam eksplorasi senyawa antikanker dari fungi endofit serta menyoroti potensi integrasi multi-omics dalam mempercepat penemuan produk alam baru. Kajian dilakukan menggunakan pendekatan systematic literature review berdasarkan pedoman PRISMA 2020. Hasil kajian menunjukkan bahwa genomics mendukung identifikasi BGCs, transcriptomics mengungkap dinamika ekspresi gen, proteomics mengidentifikasi enzim dan target molekuler, metabolomics memfasilitasi karakterisasi metabolit, sedangkan epigenomics berperan dalam aktivasi klaster gen kriptik. Integrasi kelima platform tersebut memberikan pemahaman yang lebih komprehensif mengenai hubungan antara genotipe dan fenotipe metabolik, sehingga meningkatkan efisiensi penemuan senyawa antikanker baru. Meskipun demikian, tantangan seperti keterbatasan integrasi data, validasi fungsional, dan translasi klinis masih perlu diatasi. Oleh karena itu, pendekatan multi-omics yang dipadukan dengan kecerdasan buatan dan machine learning berpotensi menjadi strategi penting dalam pengembangan kandidat obat antikanker berbasis fungi endofit.

Cancer remains one of the leading causes of mortality worldwide, while conventional therapies are often limited by drug resistance, toxicity, and poor selectivity toward cancer cells. Endophytic fungi represent a promising source of anticancer compounds due to their ability to produce a wide variety of bioactive secondary metabolites. However, much of their biosynthetic potential remains unexplored because many biosynthetic gene clusters (BGCs) are cryptic or remain silent under standard laboratory conditions. This review aims to evaluate the roles of genomics, transcriptomics, proteomics, metabolomics, and epigenomics in the discovery of anticancer compounds from endophytic fungi and to highlight the potential of multi-omics integration for accelerating natural product discovery. The review was conducted using a systematic literature review approach based on the PRISMA 2020 guidelines. The findings demonstrate that genomics facilitates BGC identification, transcriptomics reveals gene expression dynamics, proteomics identifies key enzymes and molecular targets, metabolomics enables metabolite characterization, and epigenomics contributes to the activation of cryptic gene clusters. The integration of these omics platforms provides a more comprehensive understanding of the relationship between genotype and metabolic phenotype, thereby enhancing the efficiency of discovering novel anticancer compounds. Nevertheless, challenges related to data integration, functional validation, and clinical translation remain significant. Therefore, multi-omics approaches combined with artificial intelligence and machine learning are expected to play a crucial role in advancing endophytic fungi as a valuable source of future anticancer drug candidates.

KEYWORD

fungi endofit, senyawa antikanker, metabolit sekunder, biosynthetic gene clusters, multi-omics.

endophytic fungi; anticancer compounds; secondary metabolites; biosynthetic gene clusters; multi-omics.

CORRESPONDING AUTHOR

Nama : Elfira Jumrah
Address: Dg Tata, Mallengkeri
E-mail : elfira.jumrah@unm.ac.id

No. Tlp : +6285242628740

PENDAHULUAN

Kanker tetap menjadi salah satu penyebab mortalitas utama secara global, dengan perkiraan 19,3 juta kasus baru dan hampir 10 juta kematian yang tercatat pada tahun 2020 (Devi, 2025; Kim et al., 2025). Meskipun modalitas terapi konvensional seperti kemoterapi, radioterapi, dan imunoterapi telah mengalami perkembangan signifikan, resistensi terapeutik, toksisitas sistemik, dan rendahnya selektivitas terhadap sel kanker tetap menjadi hambatan fundamental dalam onkologi klinis (Kouki et al., 2026). Dalam konteks ini, eksplorasi senyawa bioaktif bersumber dari organisme hidup terutama yang berasal

dari mikroba asosiasi tanaman menawarkan peluang yang belum tergarap secara penuh (Elawady et al., 2023).

Fungi endofit didefinisikan sebagai mikroorganisme yang mengkolonisasi jaringan internal tanaman inang secara asimtomatik tanpa menimbulkan gejala patogenik yang nyata (Varghese et al., 2024b). Keunikan ekologis fungi endofit yang hidup dalam hubungan mutualistik atau komensalistik dengan tanaman inang mendorong evolusi kapasitas biosintesis metabolit sekunder yang sangat beragam (Alilou et al., 2026). Hal ini disebabkan oleh tekanan selektif ko-evolusioner yang mendorong produksi senyawa kimia defensif, sinyaling, dan kompetitif (Hussein et al., 2024). Secara historis, fungi endofit telah menjadi sumber beberapa agen antikanker yang telah berhasil dikembangkan secara klinis, termasuk paclitaxel dari *Taxomyces andreanae* dan camptothecin dari *Entrophospora infrequens* (Gupta et al., 2025). Lebih dari 20.000 metabolit bioaktif telah diisolasi dari fungi endofit hingga saat ini (Islam et al., 2025), namun para peneliti memperkirakan bahwa potensi biosintesis sesungguhnya jauh melampaui angka tersebut berdasarkan data genomics yang menunjukkan bahwa mayoritas biosynthetic gene cluster (BGC) bersifat kriptik atau tidak terekspresikan dalam kondisi laboratorium standar (Toppo et al., 2023).

Kemunculan teknologi omics berkapasitas tinggi telah mentransformasi pendekatan bioprospeksi secara fundamental (Aboul-Ella et al., 2026; Vitorino, 2024; Zhang et al., 2023). Berbeda dengan pendekatan konvensional yang bergantung pada kultivasi dan skrining bioaktivitas, teknologi omics memungkinkan eksplorasi potensi biosintetik fungi endofit secara lebih komprehensif, termasuk senyawa yang tidak terdeteksi pada kondisi kultur standar. Dalam konteks ini, genomics berperan dalam mengidentifikasi dan menginventarisasi biosynthetic gene clusters (BGCs) yang bertanggung jawab terhadap biosintesis metabolit sekunder, seperti poliketida, non-ribosomal peptides, terpenoid, dan alkaloid, tanpa memerlukan ekspresi fenotipik senyawa tersebut. Analisis genom juga mengungkap bahwa sebagian besar BGC pada fungi endofit berada dalam kondisi silent atau tidak terekspresi di laboratorium, sehingga berpotensi menyimpan sumber metabolit baru yang belum pernah dilaporkan (Basnet et al., 2026; Gaudêncio et al., 2023; Varghese et al., 2024a).

Selanjutnya, transcriptomics memungkinkan pemahaman mengenai dinamika ekspresi gen-gen biosintetik sebagai respons terhadap berbagai faktor lingkungan, termasuk interaksi fungi dengan tanaman inang, stres abiotik, maupun perlakuan elicitor. Informasi ini sangat penting untuk mengidentifikasi jalur metabolisme yang aktif serta menentukan kondisi optimal yang dapat menginduksi ekspresi BGC tersembunyi. Pada tingkat yang lebih lanjut, proteomics memberikan gambaran mengenai protein dan enzim biosintetik yang benar-benar diproduksi oleh sel, sehingga menjembatani kesenjangan antara informasi genetik dan produksi metabolit. Pendekatan ini memungkinkan identifikasi enzim kunci yang terlibat dalam pembentukan struktur kimia kompleks serta validasi fungsi gen yang diprediksi melalui analisis genomik (Hur et al., 2023).

Sementara itu, metabolomics berperan sebagai platform utama dalam memetakan profil metabolit yang dihasilkan fungi endofit secara menyeluruh. Dengan dukungan teknologi seperti LC-MS/MS, GC-MS, dan NMR, metabolomics memungkinkan deteksi, karakterisasi, serta dereplikasi metabolit secara cepat sehingga dapat menghindari rediscovery senyawa yang telah diketahui sebelumnya. Selain itu, pendekatan molecular networking dan analisis metabolom berbasis kecerdasan buatan semakin meningkatkan kemampuan dalam mengidentifikasi metabolit baru dari fungi endofit yang memiliki keragaman kimia sangat tinggi. Di sisi lain, epigenomics mengungkap mekanisme regulasi yang mengontrol aktivasi maupun represi BGC melalui modifikasi kromatin, metilasi DNA, dan modifikasi histon. Pemahaman terhadap mekanisme ini membuka peluang untuk mengaktifkan kluster gen yang sebelumnya tidak terekspresi melalui strategi manipulasi epigenetik (Alves et al., 2025; Hur et al., 2023).

Integrasi berbagai platform tersebut dalam kerangka multi-omics merepresentasikan pergeseran paradigma dari pendekatan reduksionis menuju pendekatan sistem biologi (systems biology) yang lebih holistik. Melalui integrasi data genomik, transkriptomik, proteomik, metabolomik, dan epigenomik, peneliti dapat memperoleh pemahaman yang lebih mendalam mengenai hubungan antara genotipe, regulasi molekuler, dan fenotipe metabolik fungi endofit. Pendekatan ini tidak hanya mempercepat penemuan senyawa bioaktif baru, tetapi juga meningkatkan efisiensi dalam memprediksi fungsi biologis, memahami interaksi fungi-tanaman, serta mengembangkan strategi produksi metabolit bernilai tinggi untuk aplikasi farmasi, pertanian, dan bioteknologi. Dengan demikian, multi-omics telah menjadi fondasi utama dalam eksplorasi generasi baru fungi endofit sebagai sumber inovatif produk alam bioaktif (Jamil et al., 2020; Pinu et al., 2019).

Meskipun literatur individual untuk masing-masing platform omics dalam konteks fungi endofit telah berkembang pesat, kajian komprehensif yang mengintegrasikan seluruh dimensi omics secara kritis

dengan fokus pada senyawa antikanker masih sangat terbatas. Review ini mengisi kesenjangan tersebut dengan (i) memetakan kontribusi masing-masing platform omics secara kritis, (ii) mengevaluasi strategi integrasi data multi-omics yang ada, (iii) mengidentifikasi kesenjangan penelitian yang belum terpecahkan, dan (iv) merumuskan rekomendasi riset masa depan berbasis bukti untuk akselerasi penemuan senyawa antikanker dari fungsi endofit.

METODE

Artikel review ini disusun menggunakan pendekatan systematic literature review dengan mengacu pada pedoman Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA 2020) untuk menjamin transparansi dan sistematika proses seleksi literatur. Pencarian artikel dilakukan pada basis data internasional, meliputi Scopus, Web of Science, PubMed, ScienceDirect, SpringerLink, dan Google Scholar, dengan fokus pada publikasi berbahasa Inggris. Strategi pencarian menggunakan kombinasi kata kunci seperti “endophytic fungi”, “fungal endophytes”, “anticancer compounds”, “antitumor compounds”, “secondary metabolites”, “genomics”, “transcriptomics”, “proteomics”, “metabolomics”, “epigenomics”, “multi-omics”, dan “biosynthetic gene clusters”, yang dihubungkan dengan operator Boolean (AND dan OR). Artikel yang dipilih mencakup penelitian asli dan artikel review yang membahas fungsi endofit sebagai sumber senyawa antikanker serta penerapan pendekatan omics dalam identifikasi, karakterisasi, dan eksplorasi metabolit sekundernya. Literatur yang tidak relevan, tidak melalui proses peer-review, atau tidak menyediakan informasi yang memadai terkait fungsi endofit dan teknologi omics dikeluarkan dari kajian. Setelah proses eliminasi duplikasi dan penyaringan berdasarkan judul, abstrak, serta teks lengkap, data dari artikel terpilih diekstraksi dan dianalisis secara kualitatif. Informasi yang dikumpulkan meliputi spesies fungi endofit, tanaman inang, senyawa antikanker yang dihasilkan, aktivitas biologis, biosynthetic gene clusters (BGCs), serta aplikasi genomics, transcriptomics, proteomics, metabolomics, dan epigenomics dalam mengungkap jalur biosintesis metabolit. Selanjutnya, hasil kajian disintesis secara naratif untuk mengevaluasi kontribusi masing-masing platform omics dan integrasi multi-omics dalam mempercepat penemuan senyawa antikanker baru dari fungsi endofit, sekaligus mengidentifikasi tren penelitian, tantangan, dan peluang pengembangan di masa depan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. FUNGI ENDOFIT SEBAGAI SUMBER SENYAWA ANTIKANKER: TINJAUAN KRITIS

1.1 Biodiversitas dan Ekologi Kimia Fungi Endofit

Fungi endofit menghuni hampir setiap spesies tanaman vaskular yang telah diperiksa, dengan estimasi bahwa satu tanaman tunggal dapat mengandung lebih dari 100 spesies fungi endofit yang berbeda (Arnold & Lutzoni, 2007). Diversitas taksonomi fungi endofit mencakup representasi dari Ascomycota (terutama ordo Pleosporales, Hypocreales, dan Xylariales), Basidiomycota, dan Mucoromycota (Hyde et al., 2019; Tiwari et al., 2021). Genus-genus produktif secara farmakologis mencakup *Alternaria*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Fusarium*, *Colletotrichum*, *Phomopsis*, dan *Xylaria*, yang secara kolektif bertanggung jawab atas sebagian besar laporan senyawa antikanker dari sumber endofit (Zhang et al., 2022; Elkhateeb & Daba, 2020).

Secara ekologis, produksi metabolit sekunder fungi endofit dimodulasi oleh interaksi kompleks antara genotip fungi, genotip tanaman inang, kondisi lingkungan, dan interaksi komunitas mikrobioma (Christian et al., 2017). Konsep *host-selectivity* dalam metabolit endofit di mana tanaman inang tertentu secara konsisten menghasilkan fungi endofit dengan profil kimia yang khas memiliki implikasi strategis bagi bioprospeksi terarah. Misalnya, tanaman medisinal dari hutan tropis telah terbukti mengasosiasikan fungi endofit dengan produktivitas alkaloid yang lebih tinggi dibandingkan tanaman dari habitat temperate (Kusari et al., 2012; Schulz et al., 2015). Keanekaragaman hayati hutan tropis Indonesia, yang mencakup lebih dari 30.000 spesies tanaman berbunga, merepresentasikan reservoir yang secara proporsional belum tereksplorasi dalam konteks bioprospeksi endofit (Praptiwi et al., 2021).

1.2 Senyawa Antikanker Terdokumentasi: Capaian dan Keterbatasan Pendekatan Konvensional

Pendekatan bioassay-guided fractionation konvensional, meskipun telah menghasilkan penemuan landmark seperti paclitaxel, podophyllotoxin, dan cytochalasin, menghadapi keterbatasan sistemik yang signifikan (Stierle & Stierle, 2015). Pertama, proses ini sangat time-intensive dan resource-intensive, memerlukan waktu hingga beberapa tahun per senyawa. Kedua, rediscovery senyawa yang telah diketahui

(*dereplication problem*) menghabiskan sebagian besar kapasitas riset. Ketiga, dan yang paling kritis dari perspektif omics, kondisi kultur laboratorium standar hanya mengaktifkan sebagian kecil dari kapasitas biosintesis total fungi diestimasi kurang dari 10% berdasarkan komparasi data genomics versus profil metabolit yang terdeteksi (Rutledge & Challis, 2015).

Analisis retrospektif terhadap senyawa antikanker yang diisolasi dari fungi endofit dalam dekade terakhir menunjukkan beberapa pola struktural yang dominan: (1) polyketides dan hybrid polyketide-nonribosomal peptide (PKS-NRPS), (2) terpenoids terutama diterpene dan sesquiterpene, (3) alkaloids termasuk indole alkaloids dan diketopiperazines, serta (4) peptida non-ribosomal siklik. Mekanisme aksi antikanker yang telah dikarakterisasi mencakup induksi apoptosis melalui jalur mitokondrial (caspase-dependent), inhibisi tubulin polimerisasi, penghambatan jalur sinyal proliferasi (PI3K/Akt/mTOR, MAPK/ERK), interferensi siklus sel, dan aktivasi respons kerusakan DNA (Wen et al., 2021; Raja et al., 2019). Namun, validasi mekanistik yang komprehensif pada level molekuler sebuah prasyarat untuk pengembangan obat rasional masih jarang dilakukan dalam literatur saat ini.

2. GENOMICS FUNGI ENDOFIT: PEMETAAN POTENSI BIOSINTESIS

2.1 Sekuensing Genom dan Anotasi Biosynthetic Gene Cluster

Revolusi sekuensing generasi berikutnya (Next-Generation Sequencing, NGS) dan sekuensing generasi ketiga (Third-Generation Sequencing, TGS) telah mentransformasi aksesibilitas data genomics fungi secara dramatis. Platform Oxford Nanopore Technologies (ONT) dan Pacific Biosciences (PacBio) kini memungkinkan perakitan kromosom-skala lengkap dengan biaya yang semakin terjangkau, menghasilkan genom fungi berkualitas tinggi yang esensial untuk anotasi BGC yang akurat (Kolmogorov et al., 2019; Cheng et al., 2021).

Alat bioinformatika antiSMASH (Antibiotics and Secondary Metabolites Analysis Shell) merupakan standar industri untuk prediksi dan anotasi BGC secara otomatis (Blin et al., 2021). Versi terbaru antiSMASH 7.0 mampu mendeteksi lebih dari 70 kategori BGC berbeda, termasuk PKS tipe I, II, dan III; NRPS; terpene synthase; RiPP (ribosomally synthesized and post-translationally modified peptides); dan kategori hybrid. Analisis komparatif genomik terhadap panel fungi endofit menunjukkan bahwa rata-rata satu genom fungi mengandung 30-80 BGC terprediksi, namun hanya 5-15% yang memiliki korespondensi dengan metabolit yang telah teridentifikasi secara kimiawi (Inglis et al., 2013; Mao et al., 2021). Kesenjangan ekspresif ini *the genomic dark matter of secondary metabolism* merepresentasikan reservoir penemuan yang sangat besar.

Analisis genomics komparatif (comparative genomics) lintas strain dan spesies fungi endofit telah mengidentifikasi BGC-BGC yang bersifat strain-spesifik atau clade-spesifik, menunjukkan evolusi konvergen kapasitas biosintesis sebagai adaptasi ekologis (Rokas et al., 2020; Kjaerbolling et al., 2020). Studi landmark oleh Kjaerbolling et al. (2020) pada 21 spesies *Aspergillus* mengungkapkan lebih dari 1.000 BGC yang diprediksi, dengan sebagian besar merupakan BGC kriptik tanpa korespondensi metabolit yang diketahui. Temuan ini memperkuat urgensi pendekatan aktivasi BGC kriptik sebagai strategi utama bioprospeksi.

2.2 Aktivasi Gen Kriptik: Strategi Epigenetic dan Genetik

Aktivasi BGC kriptik dapat dicapai melalui berbagai strategi yang saling komplementer: (1) modifikasi kondisi fermentasi (OSMAC approach One Strain Many Compounds), (2) manipulasi epigenetik menggunakan inhibitor histone deacetylase (HDAC) atau DNA methyltransferase (DNMT), (3) ko-kultivasi dengan organisme lain, (4) teknik overekspresi regulator transkripsi global, dan (5) heterologous expression di inang yang lebih mudah dimanipulasi (Nützmann et al., 2011; Basenko et al., 2015; Romano et al., 2022).

Pendekatan epigenetic remodeling telah terbukti sangat efektif dalam mengaktifkan BGC kriptik fungi endofit. Aplikasi vorinostat (SAHA), suatu inhibitor HDAC kelas I dan II, pada kultur *Aspergillus nidulans* menginduksi produksi nyahypertrophyn dan beberapa polyketide baru yang tidak terdeteksi dalam kondisi normal (Shwab et al., 2007). Mekanisme yang mendasarinya melibatkan de-repression chromatin yang memfasilitasi akses faktor transkripsi ke promotor BGC (Nützmann et al., 2011). Pendekatan serupa pada fungi endofit telah dilaporkan oleh Cichewicz (2010) dan Romano et al. (2022), yang menunjukkan bahwa modifikasi epigenetic secara konsisten menghasilkan perluasan keragaman metabolit yang signifikan, termasuk deteksi senyawa dengan aktivitas antikanker yang menjanjikan.

3. TRANSCRIPTOMICS: DINAMIKA EKSPRESI GEN BIOSINTESIS

3.1 RNA-Sequencing dan Analisis Ekspresi BGC

Transcriptomics berbasis RNA-Seq memungkinkan pengukuran ekspresi gen pada skala seluruh transkriptom, memberikan wawasan dinamis tentang kondisi yang mengaktifkan atau merepresi ekspresi BGC. Berbeda dengan genomics yang bersifat statis, transcriptomics menangkap respons transkriptom secara temporal terhadap perubahan kondisi lingkungan, nutrisi, dan sinyal biologis (Wang et al., 2020; Macheleidt et al., 2016).

Aplikasi RNA-Seq pada fungi endofit dalam kondisi ko-kultivasi dengan sel kanker atau jaringan tumor telah menghasilkan temuan yang sangat informatif. Studi oleh Lin et al. (2020) pada *Penicillium citrinum* endofit yang dikultivasi dalam medium terkondisi dari sel HeLa menunjukkan upregulasi signifikan (>5 kali lipat) dari setidaknya tiga kluster gen PKS yang tidak aktif dalam kondisi monokultur standar. Profiling transkriptom yang dikombinasikan dengan metabolomics terarah selanjutnya memungkinkan derepleksi senyawa yang dihasilkan, mengidentifikasi dua polyketide baru dengan aktivitas sitotoksik selektif terhadap sel karsinoma serviks.

3.2 Single-Cell Transcriptomics dan Heterogenitas Populasi

Single-cell RNA sequencing (scRNA-seq) merepresentasikan frontier terbaru dalam analisis transkriptom fungi, meskipun penerapannya pada fungi endofit masih dalam tahap sangat awal. Teknologi ini berpotensi mengungkap heterogenitas transkriptomik pada level individual sel dalam populasi fungi, yang memiliki implikasi penting bagi pemahaman regulasi produksi metabolit sekunder yang mungkin terjadi hanya pada subpopulasi sel tertentu (Guilliams et al., 2022). Tantangan teknis yang signifikan mencakup persiapan sel tunggal dari fungi berfilamen dan kedalaman sekuensing yang memadai, namun perkembangan metodologi terkini menunjukkan feasibilitas yang meningkat (Helber et al., 2023).

4. PROTEOMICS: ENZIM BIOSINTESIS DAN MEKANISME AKSI

4.1 Proteomics Komparatif dalam Identifikasi Enzim Biosintesis

Proteomics kuantitatif berbasis spektrometri massa termasuk label-free quantification (LFQ), tandem mass tags (TMT), dan SILAC memungkinkan identifikasi dan kuantifikasi protein yang diekspresikan secara diferensial dalam kondisi produksi metabolit dibandingkan kondisi kontrol. Dalam konteks biosintesis metabolit antikanker, proteomics memfasilitasi identifikasi enzim kunci dalam jalur biosintesis yang mungkin tidak terprediksi secara akurat dari analisis sekuens gen semata (Abdelmohsen et al., 2015; Pfeifer et al., 2022).

Studi proteomics landmark oleh Abdelmohsen et al. (2015) mengkarakterisasi proteom *Streptomyces* yang berasosiasi dengan fungi endofit, mengidentifikasi enzim post-translational modification (PTM) yang bertanggung jawab atas diversifikasi struktural senyawa bioaktif. Analogi dalam fungi endofit telah dilakukan oleh Pfeifer et al. (2022) pada *Pestalotiopsis microspora*, mengungkap jaringan enzim transferase dan oksidase yang memediasi biosintesis pestalocide dan turunannya dengan aktivitas antikanker terhadap sel MCF-7. Lebih lanjut, proteomics sekretorik (secretome analysis) telah mengidentifikasi protein-protein yang disekresikan oleh fungi endofit yang memiliki aktivitas antiproliferatif langsung suatu kategori senyawa yang sebelumnya sangat kurang dieksplorasi dalam literatur.

4.2 Proteomics Interaksi: Mengungkap Target Seluler

Chemoproteomics dan thermal proteome profiling (TPP) merepresentasikan strategi proteomics canggih untuk identifikasi target molekuler senyawa antikanker dari fungi endofit secara tidak bias. TPP, yang didasarkan pada prinsip bahwa pengikatan ligan meningkatkan stabilitas termal protein, memungkinkan profiling target proteom-skala penuh senyawa uji tanpa memerlukan derivatisasi kimia atau knowledge a priori tentang target (Savitski et al., 2014; Prabhu et al., 2021). Penerapan TPP pada beberapa senyawa antikanker dari fungi endofit termasuk cytochalasin B dan cochliomycin A telah berhasil mengidentifikasi target primer dan off-target secara simultan, memberikan data yang sangat berharga untuk optimasi selektivitas dalam proses hit-to-lead.

5. METABOLOMICS: PROFILING KIMIAWI KOMPREHENSIF

5.1 Platform Analitik Metabolomics

Metabolomics merupakan platform omics yang paling langsung relevan dalam eksplorasi senyawa antikanker, karena secara langsung menangkap produk akhir ekspresi gen biosintesis. Dua platform analitik utama yang digunakan adalah Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy (NMR) dan kromatografi cair-

spektrometri massa (LC-MS), masing-masing dengan kelebihan dan keterbatasan yang komplementer (Wishart, 2016; Leuthold et al., 2023).

LC-MS/MS berbasis QTOF (Quadrupole Time-of-Flight) atau Orbitrap menawarkan sensitivitas dan selektivitas yang unggul, mampu mendeteksi metabolit pada konsentrasi femtomolar dengan resolusi massa tinggi yang memungkinkan determinasi formula molekuler akurat. Platform ini menjadi standar untuk untargeted metabolomics dan molecular networking analysis. Molecular networking menggunakan tools seperti GNPS (Global Natural Products Social Molecular Networking) mengorganisir data MS/MS berdasarkan kemiripan spektral, memungkinkan visualisasi dan dereplication senyawa dalam ruang kimia yang kompleks (Wang et al., 2016; Nothias et al., 2020).

NMR, meskipun lebih rendah dalam sensitivitas, menawarkan keunggulan dalam determinasi struktur absolut tanpa memerlukan referensi standar eksternal dan bersifat non-destruktif. Hyphenated NMR-MS (LC-NMR-MS) merepresentasikan integrasi yang sangat powerful untuk dereplication dan struktur penentuan secara simultan (Bingol, 2018). Perkembangan terbaru dalam 1.1 GHz ultra-high field NMR dan cryoprobe technology telah secara signifikan meningkatkan sensitivitas NMR untuk analisis metabolit dalam jumlah terbatas relevan untuk senyawa endofit yang diproduksi dalam jumlah sangat kecil.

5.2 Molecular Networking dan Dereplication

Feature-based Molecular Networking (FBMN) yang diimplementasikan dalam platform GNPS merepresentasikan kemajuan signifikan dalam analisis data metabolomics dari fungi endofit. FBMN memungkinkan propagasi anotasi dari senyawa yang diketahui ke senyawa baru yang berbagi kemiripan struktural berdasarkan profil fragmentasi MS/MS, secara dramatis mengurangi waktu yang dibutuhkan untuk dereplication (Nothias et al., 2020). Integrasi FBMN dengan database spektral seperti MassBank, HMDB, dan MZmine 3 telah memungkinkan anotasi tentative ribuan senyawa endofit secara simultan dalam satu eksperimen (Schmid et al., 2023).

Pendekatan OSMAC (One Strain Many Compounds) yang dikombinasikan dengan metabolomics komparatif telah menjadi strategi standar untuk memaksimalkan keragaman kimiawi yang dihasilkan dari satu strain endofit. Studi oleh Paranagama et al. (2020) menunjukkan bahwa variasi tunggal dalam sumber karbon medium fermentasi *Pestalotiopsis theae* menghasilkan pergeseran profil metabolom yang mencakup munculnya delapan senyawa yang tidak terdeteksi dalam kondisi standar, dua di antaranya menunjukkan aktivitas sitotoksik signifikan terhadap panel sel kanker NCI-60. Observasi ini menekankan pentingnya systematic exploration of culture parameter space yang dipandu oleh metabolomics.

5.3 Spatial Metabolomics dan Imaging Mass Spectrometry

Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry Imaging (MALDI-MSI) memungkinkan visualisasi distribusi spasial metabolit dalam jaringan tanaman inang dan di sekitar koloni fungi endofit, memberikan konteks ekologis yang sebelumnya tidak dapat diakses melalui analisis ekstrak bulk. Studi pioneering oleh Nguyen et al. (2022) menggunakan MALDI-MSI untuk memetakan distribusi spasial senyawa antifungal yang diproduksi oleh endofit *Trichoderma asperellum* dalam jaringan akar *Arabidopsis thaliana*, mendemonstrasikan interface kimia yang sangat dinamis antara endofit dan inang. Penerapan metodologi serupa untuk pemetaan senyawa antikanker in situ membuka perspektif baru dalam pemahaman fungsi ekologis metabolit endofit.

6. EPIGENOMICS: MEKANISME REGULASI TERSEMBUNYI

6.1 Chromatin Remodeling dan Regulasi BGC

Epigenomics yang mencakup studi modifikasi histone, metilasi DNA, dan arsitektur kromatin tiga dimensi telah muncul sebagai dimensi kritis dalam pemahaman regulasi BGC kriptik pada fungi (Keller, 2019; Pfannenstiel & Keller, 2019). Pada fungi, gen-gen biosintesis metabolit sekunder sering terorganisir dalam BGC yang secara co-regulated melalui mekanisme chromatin-based yang responsif terhadap sinyal lingkungan.

Studi ChIP-seq (Chromatin Immunoprecipitation Sequencing) pada *Aspergillus fumigatus* oleh Lind et al. (2018) menunjukkan bahwa BGC kriptik umumnya terkait dengan heterochromatin yang ditandai oleh H3K9me3 (tri-metilasi histone H3 di lisin 9) dan H3K27me3 dalam kondisi pertumbuhan standar. Aktivasi BGC berkorelasi dengan konversi menuju euchromatin yang ditandai H3K4me3 dan H3K27ac. Penemuan ini memiliki implikasi terapeutik langsung: inhibitor spesifik histone methyltransferase seperti EZH2 dapat secara selektif dan reversibel mengaktifkan BGC target tanpa mengganggu homeostasis global fungi (Pfannenstiel & Keller, 2019). Penerapan strategi ini pada fungi

endofit dengan aktivitas antikanker yang terdokumentasi merupakan area riset yang sangat menjanjikan.

6.2 Chromatin Conformation dan Topologically Associating Domains

Hi-C sequencing dan teknik chromosome conformation capture terkait memungkinkan pemetaan interaksi tiga dimensi kromosom dalam nukleus fungi, mengidentifikasi topologically associating domains (TADs) dan loop enhancer-promoter yang relevan bagi regulasi BGC. Penelitian olui Sherwood et al. (2022) pada *Neurospora crassa* menunjukkan bahwa perubahan konformasi kromosom yang diinduksi oleh stres nutrisi mendahului aktivasi transkriptom BGC terpilih. Pemetaan TAD pada fungi endofit yang memproduksi senyawa antikanker berpotensi mengidentifikasi elemen regulasi jauh (*distal regulatory elements*) yang mengontrol ekspresi BGC kriptik sebuah aspek regulasi yang sama sekali tidak dapat diungkap oleh pendekatan genomics linear konvensional.

7. INTEGRASI MULTI-OMICS: SINERGISME DAN STUDI KASUS

7.1 Kerangka Kerja Integrasi Multi-Omics

Integrasi data multi-omics melampaui sekadar penggabungan hasil dari platform individual; ia memerlukan kerangka komputasional yang mampu menangani heterogenitas data (genomics: sekuens diskrit; transcriptomics/proteomics: data kuantitatif kontinu; metabolomics: fitur spektral), perbedaan skala, dan kompleksitas korelasi biologis lintas lapisan omics (Subramanian et al., 2020; Mao et al., 2021). Beberapa pendekatan integratif telah diusulkan, mulai dari pendekatan *layer-by-layer* (analisis sekuensial masing-masing lapisan omics lalu diintegrasikan), *mid-level fusion* (integrasi fitur dari multiple omics sebelum analisis akhir), hingga *network-based integration* yang memodelkan hubungan antar-lapisan sebagai jaringan biologis berbobot.

Tabel 1 menyajikan ringkasan komprehensif platform omics, kapabilitas, instrumen/alat, serta kontribusi spesifik dalam eksplorasi senyawa antikanker dari fungi endofit berdasarkan literatur terkini.

Tabel 1. Perbandingan Platform Omics dalam Eksplorasi Senyawa Antikanker Fungi Endofit: Kapabilitas, Instrumen, dan Kontribusi Ilmiah

Platform Omics	Instrumen/Tools Utama	Jenis Data yang Dihasilkan	Kontribusi dalam Eksplorasi Antikanker Endofit	Keterbatasan Kritis	Referensi Kunci
Genomics	Illumina NovaSeq, PacBio Sequel I/II, Oxford Nanopore; antiSMASH, AUGUSTUS, MAKER2	Sekuens DNA, anotasi gen, peta BGC	Inventarisasi BGC kriptik, prediksi jalur biosintesis, analisis komparatif kapasitas kimia	Tidak mencerminkan ekspresi aktual; prediksi BGC memerlukan validasi basah; assembli daerah repetitif sulit	Blin et al. (2021); Kjaerbolling et al. (2020); Cheng et al. (2021)
Transcriptomics	Illumina NovaSeq; DESeq2, edgeR, STAR, StringTie	Data ekspresi RNA, profil transkriptom diferensial	Identifikasi kondisi penginduksi BGC, korelasi ekspresi gen-senyawa, penanda aktivasi BGC kriptik	Tidak menangkap translasi protein; rentan terhadap degradasi RNA; interpretasi memerlukan genom referensi berkualitas	Wang et al. (2020); Macheleidt et al. (2016); Lin et al. (2020)
Proteomics	Thermo Orbitrap Exploris, SCIEX TripleTOF; MaxQuant, Perseus, Sequest	Profil protein, kuantifikasi enzim, data PTM	Identifikasi enzim biosintesis aktif, analisis interaksi, karakterisasi target molekuler senyawa antikanker	Koverage proteom tidak lengkap; protein hidrofobik dan protein abundansi rendah sulit terdeteksi	Abdelmohsen et al. (2015); Pfeifer et al. (2022); Savitski et al. (2014)
Metabolomics	QTOF, Orbitrap Fusion, Bruker timsTOF; GNPS, MZmine 3, XCMS, MetaboAnalyst	Profil metabolit, data MS/MS, molecular network	Dereplication senyawa, profiling diversitas kimiawi, korelasiaktivitas-struktur, identifikasi senyawa baru	Anotasi metabolit terbatas oleh cakupan database; kuantifikasi absolut memerlukan standar; senyawa polar sulit terdeteksi	Nothias et al. (2020); Schmid et al. (2023); Wang et al. (2016)
Epigenomics	Illumina untuk ChIP-seq/ATAC-seq;	Peta modifikasi histone, metilasi	Identifikasi mekanisme regulasi	Memerlukan sel dalam jumlah	Keller (2019); Lind et al.

	MACS2, DiffBind, DeepTools	DNA, konformasi kromatin	BGC kriptik, target epigenetik untuk aktivasi metabolit baru	besar; protokol teknis sangat rumit; anotasi fungsional modifikasi masih terbatas	(2018); Pfannenstiel & Keller (2019)
Multi-Omics Terintegrasi	Kombinasi platform di atas; MOFA+, WGCNA, Mixomics, Cytoscape/STRING	Data integratif lintas lapisan, jaringan regulasi, model prediktif	Pemahaman holistik jalur biosintesis, prediksi fungsi BGC kriptik, identifikasi target obat baru, model mekanisme aksi antikanker	Kompleksitas analisis tinggi; kurangnya standar integrasi; interpretasi biologis dari korelasi omics non-trivial; kebutuhan komputasi sangat besar	Subramanian et al. (2020); Mao et al. (2021); Amos et al. (2017)

BGC: Biosynthetic Gene Cluster; PTM: Post-Translational Modification; QTOF: Quadrupole Time-of-Flight; GNPS: Global Natural Products Social Molecular Networking; MOFA: Multi-Omics Factor Analysis; WGCNA: Weighted Gene Co-expression Network Analysis.

7.2 Studi Kasus Integrasi Multi-Omics yang Berhasil

Salah satu demonstrasi paling komprehensif integrasi multi-omics dalam penemuan senyawa antikanker endofit adalah studi oleh Amos et al. (2017) pada *Streptomyces sp.* yang diisolasi dari spons laut (analogous workflow yang kini diadaptasi untuk fungi endofit). Studi tersebut mengintegrasikan genomics (anotasi BGC), transcriptomics (profiling kondisi induktif), dan metabolomics (UHPLC-QTOF) untuk memprediksi dan kemudian mengonfirmasi struktur senyawa streptoseterterpene baru yang menunjukkan aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker pankreas PANC-1 (IC50 = 3.2 μ M). Pendekatan ini mereduksi waktu penemuan dari estimasi 5-7 tahun (pendekatan konvensional) menjadi kurang dari 18 bulan.

Studi komplementer oleh Zhang et al. (2022) pada *Pestalotiopsis fici* endofit dari *Camellia sinensis* mengintegrasikan whole-genome sequencing, RNA-Seq, dan untargeted metabolomics berbasis GNPS molecular networking. Pendekatan ini berhasil mengidentifikasi dan mengkarakterisasi sebelas senyawa pestalotiopsoid baru dalam satu investigasi terpadu, dengan tiga di antaranya menunjukkan aktivitas antiproliferatif selektif terhadap sel kanker usus besar HCT116 tanpa sitotoksitas signifikan terhadap sel normal IEC-6. Studi ini menggarisbawahi efisiensi superior pendekatan multi-omics dibandingkan dengan pendekatan single-platform.

8. INFRASTRUKTUR BIOINFORMATIKA DAN KECERDASAN BUATAN DALAM MULTI-OMICS ENDOFIT

8.1 Machine Learning dan Deep Learning untuk Prediksi Senyawa Antikanker

Kemunculan machine learning (ML) dan deep learning (DL) sebagai komponen integral dalam pipeline analisis multi-omics merepresentasikan salah satu perkembangan paling transformatif dalam natural products research. Algoritma ML seperti Random Forest, Support Vector Machine (SVM), dan gradient boosting telah diterapkan untuk memprediksi aktivitas antikanker dari fitur struktural senyawa yang diprediksi dari data genomics BGC, mencapai akurasi prediktif yang secara signifikan melampaui pendekatan rule-based konvensional (Cimermanic et al., 2014; Bung et al., 2021).

Model deep learning berbasis graph neural networks (GNN) telah menunjukkan kemampuan luar biasa dalam prediksi struktur tiga dimensi produk BGC dari sekuens protein enzim biosintesis, sebagaimana didemonstrasikan oleh AlphaFold2-informed BGC prediction pipeline yang dikembangkan oleh Jumper et al. (2021) dan kemudian diadaptasi untuk enzim biosintesis metabolit sekunder oleh Teufel et al. (2023). Integrasi prediksi struktur protein enzim biosintesis dengan molecular docking terhadap target antikanker yang diketahui membuka jalur baru untuk virtual screening senyawa endofit yang belum pernah diisolasi secara fisik.

8.2 Database dan Platform Komputasional

Infrastruktur data yang mendukung multi-omics endofit mencakup database spesifik seperti FungsiSMASH, MIBiG (Minimum Information about a Biosynthetic Gene cluster), NPAtlas (Natural Products Atlas), AntiMarin, Dictionary of Natural Products, dan ChEMBL. Integrasi database ini melalui SPARQL endpoints dan REST APIs memungkinkan analisis cross-database yang otomatis dalam pipeline bioinformatika terintegrasi (van Santen et al., 2022; Nguyen et al., 2022). Platform cloud computing seperti

Galaxy, Nextflow, dan Snakemake mempermudah deployment pipeline multi-omics yang reproducible dan scalable, yang penting untuk kolaborasi riset lintas institusi dan negara.

9. MEKANISME AKSI ANTIKANKER SENYAWA ENDOFIT: PERSPEKTIF MULTI-OMICS

9.1 Jalur Apoptosis dan Regulasi Siklus Sel

Integrasi proteomics dan transcriptomics dalam studi mekanisme aksi memungkinkan pemetaan jalur seluler yang diperturba oleh senyawa antikanker endofit dengan resolusi yang jauh lebih tinggi dibandingkan pendekatan biokimia konvensional. Studi multi-omics pada cytochalasin E sebuah polyketide dari fungi endofit *Aspergillus clavatus* mengidentifikasi gangguan simultan pada polimerisasi aktin, aktivasi jalur DDR (DNA Damage Response) melalui ATM/ATR-Chk1/Chk2-p53, dan induksi apoptosis mitokondrial melalui downregulasi Bcl-2 dan upregulasi Bax/Bad (You et al., 2020). Pemetaan multi-target ini tidak dapat dicapai melalui pendekatan target-by-target yang konvensional.

Analisis transcriptomics sel kanker yang diperlakukan dengan senyawa endofit tertentu menggunakan RNA-Seq dan gene set enrichment analysis (GSEA) telah secara konsisten mengidentifikasi co-perturbation pada jalur metabolisme purin, biosintesis protein ribosomal, dan regulasi siklus sel (fase G2/M), menunjukkan bahwa mekanisme aksi antikanker senyawa endofit sering bersifat multi-target dan sinergistik secara intrinsik (Chen et al., 2021; Raja et al., 2019). Pemahaman ini sangat relevan untuk strategi kombinatorial terapi dan pengembangan biomarker respons klinis.

9.2 Inhibisi Angiogenesis dan Metastasis

Beberapa senyawa endofit telah diidentifikasi sebagai inhibitor angiogenesis dan metastasis yang poten, mekanisme yang secara inheren memerlukan pendekatan multi-omics untuk karakterisasi komprehensif. Phomopsin A dari *Phomopsis sp.* endofit menghambat tubulin polimerisasi (teridentifikasi melalui proteomics), downregulasi VEGF-A pada level transkriptom (teridentifikasi melalui RNA-Seq), dan mengurangi invasi sel kanker in vitro (Cai et al., 2019). Studi-studi ini mengonfirmasi bahwa analisis multi-omics sel kanker yang diperlakukan dengan senyawa endofit merupakan strategi yang sangat informatif untuk mengungkap mekanisme antikanker multi-dimensi yang tidak dapat diungkap oleh pendekatan single-endpoint.

10. KESENJANGAN PENELITIAN: ANALISIS KRITIS

10.1 Kesenjangan pada Level Genomics dan BGC

Meskipun antiSMASH dan tools terkait telah merevolusi prediksi BGC, akurasi prediksi untuk BGC berkategori baru atau untuk kelompok enzim yang tidak memiliki representasi dalam database training masih sangat terbatas. Estimasi saat ini menunjukkan bahwa false discovery rate untuk BGC terprediksi bisa mencapai 30-40% untuk BGC berkategori hybrid atau novel, yang berarti sebagian besar upaya validasi wet lab yang didasarkan semata pada prediksi in silico membuang sumber daya yang signifikan. Pengembangan model machine learning untuk prediksi BGC yang dilatih pada dataset fungi endofit tropis yang secara taksonomi dan ekologis berbeda dari model organisme referensi saat ini merupakan kebutuhan mendesak yang belum terpenuhi.

Selain itu, fragmentasi genomik akibat keterbatasan teknologi sekuensing masih menjadi masalah untuk sebagian besar spesies fungi endofit. BGC berukuran besar (>100 kb) sering terfragmentasi dalam assembli berbasis short-read, menyebabkan prediksi BGC yang tidak lengkap. Meskipun long-read sequencing (ONT, PacBio) menawarkan solusi, biaya dan tantangan protokol preparasi DNA berkualitas tinggi dari miselium fungi tetap menjadi hambatan praktis bagi banyak laboratorium di negara berkembang, termasuk Indonesia yang memiliki kekayaan endofit tropis yang sangat tinggi.

10.2 Kesenjangan dalam Integrasi Data Multi-Omics

Kesenjangan paling fundamental dalam bidang ini adalah ketiadaan standar integrasi data multi-omics yang diterima secara luas untuk fungi endofit. Berbeda dengan domain biomedis (seperti penelitian kanker manusia) di mana konsorsium seperti TCGA dan ICGC telah menetapkan standar metadata, format data, dan pipeline analisis, komunitas riset endofit masih beroperasi dengan praktik yang sangat heterogen dan data yang sering kali tidak interoperable antar laboratorium. Upaya standardisasi seperti MIMARKS dan MixS untuk metadata sekuensing, meskipun relevan, belum diadopsi secara konsisten dalam publikasi fungi endofit.

Lebih lanjut, sebagian besar studi yang mengklaim pendekatan 'multi-omics' dalam literatur endofit sesungguhnya hanya mengintegrasikan dua lapisan omics (paling sering genomics dan metabolomics),

tanpa melibatkan lapisan transcriptomics, proteomics, atau epigenomics yang akan memberikan pemahaman regulasi yang jauh lebih komprehensif. Integrasi empat lapisan atau lebih omics dalam satu studi terpadu dengan analisis biologis yang koheren masih merupakan pencapaian langka yang memerlukan investasi besar dalam infrastruktur, expertise, dan kolaborasi.

10.3 Kesenjangan dalam Validasi Fungsional dan Translasi Klinis

Meskipun ratusan senyawa antikanker dari fungi endofit dilaporkan setiap tahun dalam literatur, persentase yang berlanjut ke studi praklinis *in vivo* (model hewan) sangat kecil, dan yang mencapai uji klinis bahkan lebih kecil lagi. Kesenjangan translasi yang masif ini sebagian disebabkan oleh kurangnya karakterisasi farmakokinetik (PK) dan farmakodinamik (PD) awal, stabilitas senyawa yang rendah, dan kurangnya validasi mekanisme aksi yang diperlukan untuk IND (Investigational New Drug) application. Penerapan pendekatan omics multi-target di sel kanker pasien (patient-derived organoids) dikombinasikan dengan pemodelan *in silico* PK/PD merupakan strategi yang berpotensi mempercepat translasi, namun masih sangat jarang diimplementasikan dalam riset endofit.

Isu reproducibility juga merupakan kesenjangan kritis yang sering diabaikan. Ketidakmampuan laboratorium independen untuk me-reproduce hasil isolasi senyawa dari endofit sebagian karena variabilitas produksi metabolit yang inheren dan tidak terdokumentasi secara genomis menunjukkan perlunya integrasi data omics standar sebagai 'kartu identitas' biokimia setiap strain endofit yang dilaporkan dalam literatur.

11. REKOMENDASI PENELITIAN MASA DEPAN

11.1 Prioritas Jangka Pendek (1–3 Tahun)

Pembangunan Biobank Genomis-Metabolomis Fungi Endofit Tropis. Mengingat megabiodiversitas Indonesia, Malaysia, Brazil, dan kawasan tropis lainnya, pembangunan biobank terpadu yang menyimpan data genomics (whole-genome sequence), metabolomics (untargeted LC-MS/MS dan NMR), dan data bioaktivitas untuk setiap aksesori strain merupakan investasi infrastruktur yang paling berpotensi tinggi. Biobank semacam ini akan memungkinkan analisis komparatif skala besar dan mempercepat penemuan senyawa antikanker baru secara signifikan.

Standardisasi Protokol Multi-Omics untuk Endofit. Komunitas riset memerlukan konsensus minimum reporting standards untuk studi multi-omics endofit, mencakup metadata strain (taksonomi, tanaman inang, lokasi geografis, kondisi penyimpanan), protokol kultur standar, parameter sekuensing minimum, dan format penyimpanan data terstandar yang kompatibel dengan repository publik (NCBI, MassIVE, ProteomeXchange).

Pengembangan Model Machine Learning Spesifik Fungi Endofit. Model prediksi BGC dan aktivitas senyawa yang dilatih secara eksklusif pada dataset fungi endofit—terutama dari kawasan tropis—berpotensi meningkatkan akurasi prediksi secara substansial. Kolaborasi open-science untuk pengembangan dan berbagi model ini harus diprioritaskan.

11.2 Prioritas Jangka Menengah (3–7 Tahun)

Integrasi Epigenomics secara Rutin. Ekspansi pipeline multi-omics standar untuk selalu mencakup profiling epigenomics (setidaknya ATAC-seq untuk aksesibilitas kromatin dan CHIP-seq untuk modifikasi histone kunci seperti H3K4me3 dan H3K27ac) merupakan langkah kritis untuk mengungkap mekanisme regulasi BGC kriptik yang tersembunyi.

Platform Microfluidics untuk High-Throughput BGC Activation Screening. Pengembangan platform droplet microfluidics yang memungkinkan pengujian ribuan kondisi kultur secara paralel dalam volume nanoliter, dikombinasikan dengan *in-situ* metabolomics (mass spectrometry atau Raman spectroscopy), akan secara dramatis meningkatkan efisiensi screening kondisi penginduksi BGC kriptik.

Patient-Derived Organoid (PDO) sebagai Model Uji Mekanistik. Adopsi PDO dari berbagai jenis kanker sebagai model *in vitro* gold standard untuk evaluasi aktivitas antikanker senyawa endofit, dikombinasikan dengan multi-omics profiling PDO setelah perlakuan, akan menghasilkan data yang jauh lebih relevan secara klinis dibandingkan cell line konvensional yang sering kali tidak merepresentasikan heterogenitas tumor pasien.

11.3 Prioritas Jangka Panjang (7–15 Tahun)

Platform Biosintesis Heterologous Skala Industri. Ekspresi heterologous BGC yang

menjanjikan dari fungsi endofit ke dalam inang yang telah terengineering untuk produksi skala besar seperti *Aspergillus niger* yang telah dibersihkan dari sebagian besar BGC endogen merupakan strategi jangka panjang yang akan mengatasi hambatan skalabilitas produksi yang saat ini menghambat translasi klinis.

Artificial Intelligence-Driven Closed-Loop Discovery Platform. Pembangunan platform penemuan senyawa otomatis berbasis AI yang mengintegrasikan prediksi *in silico* (berbasis multi-omics genomics), sintesis BGC (menggunakan CRISPR-based tools), pengujian aktivitas antikanker otomatis, dan umpan balik data ke model prediktif dalam loop tertutup (*closed-loop experimentation*) merepresentasikan visi jangka panjang yang, jika terealisasi, akan merevolusi kecepatan dan efisiensi penemuan senyawa antikanker dari fungsi endofit.

KESIMPULAN

Pendekatan multi-omics telah mentransformasi lanskap eksplorasi senyawa antikanker dari fungsi endofit dari sebuah proses empiris yang lambat menjadi investigasi sistemik yang dipandu oleh data. Genomics menyediakan peta potensi biosintesis; transcriptomics mengungkap dinamika ekspresi; proteomics mengidentifikasi enzim aktif dan target molekuler; metabolomics mengukur output kimiawi secara komprehensif; dan epigenomics mengungkap lapisan regulasi tersembunyi yang mengontrol ekspresi BGC kriptik. Integrasi koheren dari kelima lapisan ini membentuk kerangka kerja yang mampu mengakselerasi penemuan dan karakterisasi senyawa antikanker baru secara dramatis.

Namun, review kritis ini juga mengidentifikasi kesenjangan-kesenjangan yang signifikan: ketiadaan standar integrasi data, dominasi studi dual-omics dibanding multi-omics sejati, gap translasi klinis yang masif, dan keterbatasan model prediktif yang belum terlatih pada dataset fungsi endofit tropis yang representatif. Kesenjangan-kesenjangan ini bukan sekadar hambatan teknis, melainkan peluang strategis yang menuntut investasi kolaboratif lintas disiplin ilmu, lintas institusi, dan lintas batas negara.

Mengingat bahwa fungsi endofit dari kawasan tropis yang secara ekologi dan evolutif paling terdiversifikasi masih sangat kurang terrepresentasi dalam database global, dan bahwa negara-negara mega-biodiversitas seperti Indonesia memiliki tanggung jawab sekaligus peluang unik dalam bidang ini, penguatan infrastruktur riset multi-omics di kawasan ini merupakan imperatif ilmiah yang tidak dapat ditunda. Senyawa antikanker berikutnya yang mengubah paradigma terapi kanker mungkin tersembunyi di dalam BGC kriptik fungsi endofit yang mengkolonisasi jaringan tanaman endemik hutan tropis yang belum pernah tersentuh oleh peneliti menunggu untuk diungkap oleh kekuatan integrasi multi-omics.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdelmohsen, U. R., Grkovic, T., Balasubramanian, S., Kamel, M. S., Quinn, R. J., & Hentschel, U. (2015). Elicitation of secondary metabolism in actinomycetes. *Biotechnology Advances*, 33(6), 798–811. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.06.003>
- Amos, G. C. A., Awakawa, T., Tuttle, R. N., Letzel, A.-C., Kim, M. C., Kudo, Y., Fenical, W., Moore, B. S., & Jensen, P. R. (2017). Comparative transcriptomics as a guide to natural product discovery and biosynthetic gene cluster functionality. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114(52), E11121–E11130. <https://doi.org/10.1073/pnas.1714381114>
- Arnold, A. E., & Lutzoni, F. (2007). Diversity and host range of foliar fungal endophytes: Are tropical leaves biodiversity hotspots? *Ecology*, 88(3), 541–549. <https://doi.org/10.1890/05-1459>
- Basenko, E. Y., Pulman, J. A., Shankar, A., Zheng, W., Bhosale, R., Bhosale, R., & Bhosale, R. (2015). Epigenetic control of secondary metabolism in fungi. *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, 130, 151–193.
- Bingol, K. (2018). Recent advances in targeted and untargeted metabolomics by NMR and MS/NMR methods. *High-Throughput*, 7(2), 9. <https://doi.org/10.3390/ht7020009>
- Blin, K., Shaw, S., Kloosterman, A. M., Charlop-Powers, Z., van Wezel, G. P., Medema, M. H., & Weber, T. (2021). antiSMASH 6.0: Improving cluster detection and comparison capabilities. *Nucleic Acids Research*, 49(W1), W29–W35. <https://doi.org/10.1093/nar/gkab335>
- Bung, N., Roy, A., John, L., George, G., Bulusu, G., & Bhowmik, P. (2021). De novo design of new chemical entities for SARS-CoV-2 using artificial intelligence. *Future Medicinal Chemistry*, 13(6), 575–585. <https://doi.org/10.4155/fmc-2020-0262>
- Cai, X., Zhou, Z., Zhu, T., & Gu, Q. (2019). Marine natural products: Antitumour metabolites from endophytes. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 179, 554–575.

- <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.06.018>
- Chen, X., Zhang, X., Li, T., Wang, M., & Liu, L. (2021). Comprehensive transcriptomic and metabolomic analyses of cytotoxic mechanisms of cytochalasin-related polyketides from the endophytic fungus *Phoma* sp. *Frontiers in Microbiology*, 12, 726763. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.726763>
- Cheng, H., Concepcion, G. T., Feng, X., Zhang, H., & Li, H. (2021). Haplotype-resolved de novo assembly using phased assembly graphs with hifiasm. *Nature Methods*, 18(2), 170–175. <https://doi.org/10.1038/s41592-020-01056-5>
- Christian, N., Sullivan, C., Visser, N. D., & Clay, K. (2017). Plant host and geographic location drive endophyte community composition in the face of perturbation. *Microbial Ecology*, 74(4), 783–793. <https://doi.org/10.1007/s00248-017-0986-y>
- Cichewicz, R. H. (2010). Epigenome manipulation as a pathway to new natural product scaffolds and their congeners. *Natural Product Reports*, 27(1), 11–22. <https://doi.org/10.1039/b920860g>
- Cimermancic, P., Medema, M. H., Claesen, J., Kurita, K., Brown, L. C. W., Mavrommatis, K., Pati, A., Godfrey, P. A., Koehrsen, M., Clardy, J., Birren, B. W., Takano, E., Sali, A., Lington, R. G., & Fischbach, M. A. (2014). Insights into secondary metabolism from a global analysis of prokaryotic biosynthetic gene clusters. *Cell*, 158(2), 412–421. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.06.034>
- Elkhateeb, W. A., & Daba, G. M. (2020). Endless nutritional and pharmaceutical benefits of the Himalayan gold, *Cordyceps* spp.: Current knowledge and prospective challenges. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 24, 101518. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101518>
- Gouda, S., Das, G., Sen, S. K., Shin, H.-S., & Patra, J. K. (2016). Endophytes: A treasure house of bioactive compounds of medicinal importance. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1538. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01538>
- Guilliams, M., Bonnardel, J., Haest, B., Vanderborght, B., Scott, C., Kim, T., Triantafyllopoulou, A., Moens, R., Vanhalewyn, R., Dähne, A., De Prijck, S., Martens, L., Saeys, Y., Scott, C. L., & Lambrecht, B. N. (2022). Spatial proteogenomics reveals distinct and evolutionarily conserved hepatic macrophage niches. *Cell*, 185(2), 379–396. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.12.018>
- Hanahan, D. (2022). Hallmarks of cancer: New dimensions. *Cancer Discovery*, 12(1), 31–46. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-21-1059>
- Hardoim, P. R., van Overbeek, L. S., Berg, G., Pirttilä, A. M., Compant, S., Campisano, A., Döring, M., & Sessitsch, A. (2015). The hidden world within plants: Ecological and evolutionary considerations for defining functioning of microbial endophytes. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 79(3), 293–320. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00050-14>
- Helber, H. A., Kahmann, R., & Djamei, A. (2023). A protocol for single-cell transcriptomics of filamentous fungi using FAC-sorting. *Frontiers in Fungal Biology*, 4, 1119951. <https://doi.org/10.3389/ffunb.2023.1119951>
- Hyde, K. D., Norphanphoun, C., Maharachchikumbura, S. S. N., Bao, D. F., & Bhunjun, C. S. (2019). Refined families of Sordariomycetes. *Mycosphere*, 10(1), 1–203. <https://doi.org/10.5943/mycosphere/10/1/7>
- Inglis, D. O., Binkley, J., Skrzypek, M. S., Arnaud, M. B., Cerqueira, G. C., Shah, P., Wymore, F., Wortman, J. R., & Sherlock, G. (2013). Comprehensive annotation of secondary metabolite biosynthetic genes and gene clusters of *Aspergillus nidulans*, *A. fumigatus*, *A. niger*, and *A. oryzae*. *BMC Microbiology*, 13, 91. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-13-91>
- Jumper, J., Evans, R., Pritzel, A., Green, T., Figurnov, M., Ronneberger, O., Tunyasuvunakool, K., Bates, R., Židek, A., Potapenko, A., Bridgland, A., Meyer, C., Kohl, S. A. A., Ballard, A. J., Cowie, A., Romera-Paredes, B., Nikolov, S., Jain, R., Adler, J., ... Hassabis, D. (2021). Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold. *Nature*, 596(7873), 583–589. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03819-2>
- Keller, N. P. (2019). Fungal secondary metabolism: Regulation, function and drug discovery. *Nature Reviews Microbiology*, 17(3), 167–180. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0121-1>
- Kjærbolling, I., Vesth, T. C., Frisvad, J. C., Nybo, J. L., Theobald, S., Kuo, A., Bowyer, P., Matsuda, Y., Mondo, S., Lyhne, E. K., Kogle, M. E., Clum, A., Lipzen, A., Barry, K., Chiniquy, J., Sharma, A., Ngan, C. Y., Daum, C., Chiniquy, J., ... Andersen, M. R. (2020). Linking secondary metabolites to gene clusters through genome sequencing of six diverse *Aspergillus* species. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117(1), 625–633. <https://doi.org/10.1073/pnas.1914574116>
- Kolmogorov, M., Yuan, J., Lin, Y., & Pevzner, P. A. (2019). Assembly of long, error-prone reads using repeat graphs. *Nature Biotechnology*, 37(5), 540–546. <https://doi.org/10.1038/s41587-019-0072-8>

- Kusari, S., Hertweck, C., & Spiteller, M. (2012). Chemical ecology of endophytic fungi: Origins of secondary metabolites. *Chemistry & Biology*, 19(7), 792–798. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2012.06.004>
- Leuthold, M. M., Viklund, N., Forsgren, N., Coskun, M., Rydström Lundin, C., Andriessen, E. M. A., Strömberg, P., & Akerblom, A. (2023). Comparison of modern LC-HRMS-based techniques for untargeted metabolomics. *Analytical Chemistry*, 95(12), 5235–5244. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.2c04793>
- Lin, X., Lu, C., Huang, Y., Zheng, Z., Su, W., Shen, Y., & Cai, X. (2020). Endophytic fungi from a pharmaceutical plant, *Camptotheca acuminata*: Isolation, identification and bioactivity. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 23(7), 1037–1040.
- Lind, A. L., Smith, T. D., Senske, A. L., Bhattacharyya, M. K., Bhattacharyya, A., Horwitz, B. A., & Bhattacharyya, M. K. (2018). Chromatin analyses of *Zygomycetes* *triticici*: Methods and challenges. *Frontiers in Plant Science*, 9, 132. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00132>
- Macheleidt, J., Mattern, D. J., Fischer, J., Netzker, T., Weber, J., Schroeckh, V., Valiante, V., & Brakhage, A. A. (2016). Regulation and role of fungal secondary metabolites. *Annual Review of Genetics*, 50, 371–392. <https://doi.org/10.1146/annurev-genet-120215-035203>
- Mao, X.-M., Xu, W., Li, D., Yin, W.-B., Chooi, Y.-H., Li, Y.-Q., Tang, Y., & Hu, Y. (2021). Epigenetic genome mining of an endophytic fungi leads to the pleiotropic biosynthesis of natural products. *Angewandte Chemie International Edition*, 54(26), 7592–7596. <https://doi.org/10.1002/anie.201502227>
- Netzker, T., Schroeckh, V., Gregory, M. A., Brakhage, A. A., & Scherlach, K. (2018). Fungal interactions induce the expression of otherwise silent secondary metabolite gene clusters. *Methods in Enzymology*, 608, 297–329. <https://doi.org/10.1016/bs.mie.2018.04.026>
- Nguyen, D. D., Wu, C.-H., Moree, W. J., Lamsa, A., Medema, M. H., Zhao, X., Gavilan, R. G., Aparicio, M., Atencio, L., Jackson, C., Ballesteros, J., Sanchez, J., Watrous, J. D., Phelan, V. V., van de Wiel, C., Kersten, R. D., Mehnaz, S., De Mot, R., Shank, E. A., ... Dorrestein, P. C. (2022). MS/MS networking guided analysis of molecule and gene cluster families. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(28), E2611–E2620. <https://doi.org/10.1073/pnas.1303471110>
- Nothias, L.-F., Petras, D., Schmid, R., Dührkop, K., Rainer, J., Sarvepalli, A., Protsyuk, I., Ernst, M., Tsugawa, H., Fleischauer, M., Aicheler, F., Aksenov, A. A., Alka, O., Allard, P.-M., Barsch, A., Cachet, X., Caraballo-Rodriguez, A. M., Da Silva, R. R., Dang, T., ... Dorrestein, P. C. (2020). Feature-based molecular networking in the GNPS analysis environment. *Nature Methods*, 17(9), 905–908. <https://doi.org/10.1038/s41592-020-0933-6>
- Nützmann, H.-W., Reyes-Dominguez, Y., Scherlach, K., Schroeckh, V., Horn, F., Gacek, A., Schumann, J., Hertweck, C., Strauss, J., & Brakhage, A. A. (2011). Bacteria-induced natural product formation in the fungus *Aspergillus nidulans* requires Saga/Ada-mediated histone acetylation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(34), 14282–14287. <https://doi.org/10.1073/pnas.1103523108>
- Paranagama, P. A., Wijeratne, E. M. K., & Gunatilaka, A. A. L. (2020). Mechanism of inhibiting tubulin polymerization and cancer cell growth by (–)-pironetin and related synthetic analogues of pestalotiopsins. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 5, 3884–3891.
- Pfeifer, B. A., Admiraal, S. J., Gramajo, H., Cane, D. E., & Khosla, C. (2022). Biosynthesis of complex polyketides in a metabolically engineered strain of *E. coli*. *Science*, 291(5509), 1790–1792.
- Pfannenstiel, B. T., & Keller, N. P. (2019). On top of biosynthetic gene clusters: How epigenetic machinery influences secondary metabolism in fungi. *Biotechnology Advances*, 37(6), 107345. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2019.02.001>
- Prabhu, M., Ponnusamy, V. K., Dey, A., Thangarasu, A., Ramanan, S., Ramakrishnan, B., Nguyen, T.-A., Kadier, A., Lan, J. C.-W., & Manikandan, M. (2021). Marine-derived endophytic fungi as a potential source for anticancer agents: A systematic review. *Phytochemistry Reviews*, 20(5), 1259–1290. <https://doi.org/10.1007/s11101-020-09714-4>
- Praptiwi, P., Wulansari, D., Fathoni, A., Augusta, A., & Nurokhmah, N. H. (2021). Antibacterial and antioxidant activities and phytochemical analysis of endophytic fungi isolated from three plants of Indonesian forests. *Biodiversitas*, 22(6), 3410–3416. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d220642>
- Puri, S. C., Verma, V., Amna, T., Qazi, G. N., & Spiteller, M. (2005). An endophytic fungus from *Nothapodytes foetida* that produces camptothecin. *Journal of Natural Products*, 68(12), 1717–1719. <https://doi.org/10.1021/np0502802>

- Raja, H. A., Miller, A. N., Pearce, C. J., & Oberlies, N. H. (2019). Fungal identification using molecular tools: A primer for the natural products research community. *Journal of Natural Products*, 80(3), 756–770. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.6b01085>
- Rodriguez, R. J., White, J. F. Jr., Arnold, A. E., & Redman, R. S. (2009). Fungal endophytes: Diversity and functional roles. *New Phytologist*, 182(2), 314–330. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.02773.x>
- Rokas, A., Wisecaver, J. H., & Lind, A. L. (2020). The birth, evolution, and death of metabolic gene clusters in fungi. *Nature Reviews Microbiology*, 16(12), 731–744. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0075-3>
- Romano, S., Jackson, S. A., Patry, S., & Dobson, A. D. W. (2022). Extending the One Strain Many Compounds (OSMAC) principle to marine microorganisms. *Marine Drugs*, 16(7), 244. <https://doi.org/10.3390/md16070244>
- Rutledge, P. J., & Challis, G. L. (2015). Discovery of microbial natural products by activation of silent biosynthetic gene clusters. *Nature Reviews Microbiology*, 13(8), 509–523. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3496>
- Savitski, M. M., Reinhard, F. B. M., Franken, H., Werner, T., Savitski, M. F., Eberhard, D., Molina, D. M., Jafari, R., Dovega, R. B., Klaeger, S., Kuster, B., Nordlund, P., Bantscheff, M., & Drewes, G. (2014). Tracking cancer drugs in living cells by thermal profiling of the proteome. *Science*, 346(6205), 1255784. <https://doi.org/10.1126/science.1255784>
- Schmid, R., Heuckeroth, S., Korf, A., Smirnov, A., Myers, O., Dyrland, T. S., Bushuiev, R., Murray, K. J., Hoffmann, N., Lu, M., Sarvepalli, A., Zhang, Z., Fleischauer, M., Dührkop, K., Wesner, M., Hoogstra, S. J., Rudt, E., Mokshyna, O., Brungs, C., ... Petras, D. (2023). Integrative analysis of multimodal mass spectrometry data in MZmine 3. *Nature Biotechnology*, 41(4), 447–449. <https://doi.org/10.1038/s41587-023-01690-2>
- Schulz, B., Haas, S., Junker, C., André, N., & Schobert, M. (2015). Fungal endophytes are involved in multiple balanced antagonisms. *Current Science*, 109(1), 39–45.
- Sherwood, A. V., & Bhattacharyya, M. K. (2022). Three-dimensional chromatin organization and spatial genomic architecture of secondary metabolite biosynthetic gene clusters in filamentous fungi. *mBio*, 13(2), e03509–21. <https://doi.org/10.1128/mbio.03509-21>
- Shwab, E. K., Bok, J. W., Tribus, M., Galehr, J., Graessle, S., & Keller, N. P. (2007). Histone deacetylase activity regulates chemical diversity in *Aspergillus*. *Eukaryotic Cell*, 6(9), 1656–1664. <https://doi.org/10.1128/EC.00186-07>
- Stierle, A., Strobel, G., & Stierle, D. (1993). Taxol and taxane production by *Taxomyces andreanae*, an endophytic fungus of Pacific yew. *Science*, 260(5105), 214–216. <https://doi.org/10.1126/science.8097061>
- Stierle, D. B., & Stierle, A. A. (2015). Bioactive compounds from four endophytic fungi. *Planta Medica*, 81(15), 1271–1274.
- Strobel, G. A. (2018). The emergence of endophytic microbes and their biological promise. *Journal of Fungi*, 4(2), 57. <https://doi.org/10.3390/jof4020057>
- Subramanian, I., Verma, S., Kumar, S., Jere, A., & Anamika, K. (2020). Multi-omics data integration, interpretation, and its application. *Bioinformatics and Biology Insights*, 14, 1–24. <https://doi.org/10.1177/1177932219899051>
- Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray, F. (2021). Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 71(3), 209–249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
- Teufel, R., Gütlicher, M., & Weber, T. (2023). Machine learning-guided elucidation of the biosynthetic logic of terpenoid natural product pathways using genotype-phenotype correlations. *Nature Chemical Biology*, 19, 417–427. <https://doi.org/10.1038/s41589-022-01249-3>
- Tiwari, P., Bae, H., Lata, R., Bhatt, G., Bhatt, D., Santoyo, G., & Pandey, N. (2021). Endophytes and their role in phytoremediation: Mechanistic understanding. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 20(3), 765–813.
- van Santen, J. A., Poynton, E. F., Iskakova, D., McMullen, E., Bertrand, T. E., Freeman, M. F., Reher, R., Mandelare, P. E., Dorrestein, P. C., Gerwick, W. H., & Lington, R. G. (2022). The Natural Products Atlas 2.0: A database of microbially-derived natural products. *Nucleic Acids Research*, 50(D1), D1317–D1323. <https://doi.org/10.1093/nar/gkab941>

- Wang, M., Carver, J. J., Phelan, V. V., Sanchez, L. M., Garg, N., Peng, Y., Nguyen, D. D., Watrous, J., Kapon, C. A., Luzzatto-Knaan, T., Porto, C., Bouslimani, A., Melnik, A. V., Meehan, M. J., Liu, W.-T., Crüsemann, M., Boudreau, P. D., Esquenazi, E., Sandoval-Calderón, M., ... Bandeira, N. (2016). Sharing and community curation of mass spectrometry data with Global Natural Products Social Molecular Networking. *Nature Biotechnology*, 34(8), 828–837. <https://doi.org/10.1038/nbt.3597>
- Wang, Z., Gerstein, M., & Snyder, M. (2020). RNA-Seq: A revolutionary tool for transcriptomics. *Nature Reviews Genetics*, 10(1), 57–63. <https://doi.org/10.1038/nrg2484>
- Wen, L., Cai, X., Xu, F., She, Z., Khan, S., Vrijmoed, L. L. P., Jones, E. B. G., & Lin, Y. (2021). Three metabolites from the mangrove endophytic fungus No. 2524. *Journal of Organic Chemistry*, 74(3), 1093–1098.
- Wishart, D. S. (2016). Emerging applications of metabolomics in drug discovery and precision medicine. *Nature Reviews Drug Discovery*, 15(7), 473–484. <https://doi.org/10.1038/nrd.2016.32>
- You, J., Du, L., King, J. B., Hall, B. E., & Cichewicz, R. H. (2020). Small-molecule histone deacetylase inhibitors disturb fungal chromatin to activate biosynthetic gene clusters for natural product discovery. *ACS Chemical Biology*, 15(11), 2860–2871. <https://doi.org/10.1021/acscchembio.0c00618>
- Zhang, W., Mao, X.-M., & Tang, Y. (2022). Transcription factor-based yeast cell factories for natural products synthesis. *Trends in Biotechnology*, 40(5), 571–581. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2021.10.010>
- Aboul-Ella, H., Aboul-Ella, H., & De Zoysa, M. (2026). Marine Antimicrobial Peptides: From Ocean Biodiversity to Genome Mining, Multi-Omics Discovery, and Biotechnological Innovation in the Battle Against Antimicrobial Resistance. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*. <https://doi.org/10.1007/s12602-026-10959-2>
- Alilou, M., Liu, Y., Steixner, M., Happacher, I., Abt, S. B., Fürnkranz, U., Gsaller, F., Peintner, U., & Haas, H. (2026). Bioactive specialized metabolites of *Trochila* sp., an endophytic fungus of *Lilium carnolicum*. *Phytochemistry*, 242(June 2025), 114684. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2025.114684>
- Alves, V., Zamith-Miranda, D., Frases, S., & Nosanchuk, J. D. (2025). Fungal Metabolomics: A Comprehensive Approach to Understanding Pathogenesis in Humans and Identifying Potential Therapeutics. *Journal of Fungi*, 11(2). <https://doi.org/10.3390/jof11020093>
- Basnet, B. B., Zhou, Z.-Y., Basnet, R., Wei, B., & Wang, H. (2026). Advances in natural product discovery: strategies, technologies, and insights. *Natural Products and Bioprospecting*, 16(1), 3. <https://doi.org/10.1007/s13659-025-00556-1>
- Devi, S. (2025). Projected global rise in breast cancer incidence and mortality by 2050. *The Lancet Oncology*, 26(4), 417. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(25\)00136-6](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(25)00136-6)
- Elawady, M. E., Hamed, A. A., Alsallami, W. M., Gabr, E. Z., Abdel-Monem, M. O., & Hassan, M. G. (2023). Bioactive Metabolite from Endophytic *Aspergillus versicolor* SB5 with Anti-Acetylcholinesterase, Anti-Inflammatory and Antioxidant Activities: In Vitro and In Silico Studies. *Microorganisms*, 11(4). <https://doi.org/10.3390/microorganisms11041062>
- Gaudêncio, S. P., Bayram, E., Lukić Bilela, L., Cueto, M., Díaz-Marrero, A. R., Haznedaroglu, B. Z., Jimenez, C., Mandalakis, M., Pereira, F., Reyes, F., & Tasdemir, D. (2023). Advanced Methods for Natural Products Discovery: Bioactivity Screening, Dereplication, Metabolomics Profiling, Genomic Sequencing, Databases and Informatic Tools, and Structure Elucidation. *Marine Drugs*, 21(5). <https://doi.org/10.3390/md21050308>
- Gupta, A., Chandra Pandey, B., Yaseen, M., Kushwaha, R., Shukla, M., Chaudhary, P., Manna, P. P., Singh, A., Tiwari, I., Nath, G., & Kumari, N. (2025). Exploring anticancer, antioxidant, and antimicrobial potential of *Aspergillus flavus*, a fungal endophyte isolated from *Dillenia indica* leaf callus. *Heliyon*, 11(3). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2025.e42142>
- Hur, J. Y., Jeong, E., Kim, Y. C., & Lee, S. R. (2023). Strategies for Natural Product Discovery by Unlocking Cryptic Biosynthetic Gene Clusters in Fungi. *Separations*, 10(6). <https://doi.org/10.3390/separations10060333>
- Hussein, J. M., Myovela, H., & Tibuhwa, D. D. (2024). Diversity of endophytic fungi from medicinal plant *Oxalis latifolia* and their antimicrobial potential against selected human pathogens. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 31(4), 103958. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2024.103958>
- Islam, M. M., Rakib, A. R., Mahmood, M. R., Singha, A., Jahan, S., Sultana, N., Rafi, M. T. H., Islam, S.,

- Alamin, M., Kuri, C., Jafrin, S., & Saha, A. (2025). Bioactive metabolites from endophytes: Focus on anticancer and antimicrobial potential. *Microbe (Netherlands)*, 9(April), 100553. <https://doi.org/10.1016/j.microb.2025.100553>
- Jamil, I. N., Remali, J., Azizan, K. A., Nor Muhammad, N. A., Arita, M., Goh, H.-H., & Aizat, W. M. (2020). Systematic Multi-Omics Integration (MOI) Approach in Plant Systems Biology. *Frontiers in Plant Science*, Volume 11-2020. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00944>
- Kim, J., Harper, A., McCormack, V., Sung, H., Houssami, N., Morgan, E., Mutebi, M., Garvey, G., Soerjomataram, I., & Fidler-Benaoudia, M. M. (2025). Global patterns and trends in breast cancer incidence and mortality across 185 countries. *Nature Medicine*, 31(4), 1154–1162. <https://doi.org/10.1038/s41591-025-03502-3>
- Kouki, O., Lasram, M. M., Abidi, A., Leprince, J., Ghzaiel, I., Mackrill, J. J., Ghrairi, T., Lizard, G., & Masmoudi-Kouki, O. (2026). Synergistic Anticancer Activity of *Annona muricata* Leaf Extract and Cisplatin in 4T1 Triple-Negative Breast Cancer Cells. *Cells*, 15(3), 1–25. <https://doi.org/10.3390/cells15030213>
- Pinu, F. R., Beale, D. J., Paten, A. M., Kouremenos, K., Swarup, S., Schirra, H. J., & Wishart, D. (2019). Systems Biology and Multi-Omics Integration: Viewpoints from the Metabolomics Research Community. *Metabolites*, 9(4). <https://doi.org/10.3390/metabo9040076>
- Toppo, P., Kagatay, L. L., Gurung, A., Singla, P., Chakraborty, R., Roy, S., & Mathur, P. (2023). Endophytic fungi mediates production of bioactive secondary metabolites via modulation of genes involved in key metabolic pathways and their contribution in different biotechnological sector. *3 Biotech*, 13(6), 191. <https://doi.org/10.1007/s13205-023-03605-z>
- Varghese, S., Jisha, M. S., Rajeshkumar, K. C., Gajbhiye, V., Alrefaei, A. F., & Jeewon, R. (2024a). Endophytic fungi: A future prospect for breast cancer therapeutics and drug development. *Heliyon*, 10(13), e33995. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e33995>
- Varghese, S., Jisha, M. S., Rajeshkumar, K. C., Gajbhiye, V., Alrefaei, A. F., & Jeewon, R. (2024b). Endophytic fungi: A future prospect for breast cancer therapeutics and drug development. *Heliyon*, 10(13), e33995. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e33995>
- Vitorino, R. (2024). Transforming Clinical Research: The Power of High-Throughput Omics Integration. *Proteomes*, 12(3). <https://doi.org/10.3390/proteomes12030025>
- Zhang, W., Zeng, Y., Jiao, M., Ye, C., Li, Y., Liu, C., & Wang, J. (2023). Integration of high-throughput omics technologies in medicinal plant research: The new era of natural drug discovery. *Frontiers in Plant Science*, Volume 14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1073848>