

## Potensi Antiadhesi Senyawa Aktif *Hibiscus sabdariffa* L Pada Penghambatan Protein Target *IcsA Shigella flexneri* Melalui Studi *in Silico* Molecular Docking

Rizky Fajar Imam Asshiddiq, Arif Yahya, Rio Risandiansyah\*

Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

### ABSTRAK

**Pendahuluan:** Diare di Indonesia merupakan salah satu penyakit dengan prevalensi yang tinggi, salah satunya disebabkan karena infeksi *S. flexneri* melalui proses paparan, adhesi, invasi dan kolonisasi. *H. sabdariffa* L sendiri merupakan salah satu herbal yang memiliki potensi antiadhesi, namun, potensi anti-adhesi herbal ini terhadap *S. flexneri* masih belum diketahui. Adhesi *S. flexneri* pada sel inang diperankan oleh *IcsA*, sehingga penelitian ini dilakukan untuk mengetahui apakah *H. sabdariffa* L dapat berikatan dengan protein target *IcsA S. flexneri*.

**Metode:** Penelitian ini menggunakan metode *In silico molecular docking* dengan menambatkan struktur 3D 25 senyawa aktif dari *H. sabdariffa* L yang didapatkan dari Pubchem, dan protein target *IcsA S. flexneri* (5KE1) yang didapatkan dari RCSB dengan menggunakan *docking server* dengan kontrol *Ciprofloxacin*.

**Hasil:** Senyawa *H. sabdariffa* L memiliki afinitas yang lebih baik daripada *Ciprofloxacin*. Lima senyawa dengan nilai energi ikatan bebas terbaik adalah *Quercetin-3-rutinoside* (-9.21 kcal/mol), *Leucoside (kaempferol-3-O-sambioside)* (-8.83 kcal/mol), *Quercetine-3-glucoside* (-8.23 kcal/mol), *Tiliroside* (-7.86 kcal/mol), *Caffeoylquinic acid isomer (Isochlorogenic acid)* (-7.43 kcal/mol), nilai konstanta inhibisi berturut turut adalah 178.61 nM, 337.61 nM, 924.29 nM, 1.15 uM, dan 1.69 uM, nilai interaksi permukaan berturut turut adalah 525.416 Å, 751.689 Å, 564.99 Å, 803.103 Å, 572.111 Å, serta jumlah residu asam amino berturut turut adalah 3,9,5,9,8.

**Kesimpulan:** *Quercetine-3-rutinoside*, *Leucoside (kaempferol-3-O-sambioside)*, *Quercetine-3-glucoside*, *Tiliroside*, *Caffeoylquinic acid isomer (Isochlorogenic)* dapat berikatan dengan *S. flexneri* serta berpotensi untuk digunakan sebagai antiadhesi.

**Kata Kunci:** Antiadhesi, *Hibiscus sabdariffa*, *Shigella flexneri*, *Fluoroquinolone ciprofloxacin*, *in silico*.

\*Korespondensi:

Rio Risandiansyah, S.Ked., MP, PhD

Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang

Address: Jl MT Haryono 193 Malang City, East Java Indonesia, 65145

Email: [riorisandiansyah@unisma.ac.id](mailto:riorisandiansyah@unisma.ac.id)

## Antiadhesion Potential of Active Compound *Hibiscus sabdariffa* L on Inhibition of *Shigella flexneri* *IcsA* Target Protein With *in Silico* Studies Molecular Docking

Rizky Fajar Imam Asshiddiq, Arif Yahya, Rio Risandiansyah\*

Medical Education Program Study, Faculty of Medicine, Islamic University of Malang

### ABSTRACT

**Introduction:** Diarrhea in Indonesia is a disease with a high prevalence, one of which is caused by *S. flexneri* infection through exposure, adhesion, invasion and colonization process. *H. sabdariffa* L is one of the herbs that has anti-adhesion potential, however, the anti-adhesion potential of this herb against *S. flexneri* is still unknown. The adhesion of *S. flexneri* to host cells is mediated by *IcsA*, so this study was conducted to determine whether *H. sabdariffa* L could bind to the target protein *IcsA S. flexneri*.

**Methods:** This study used the *In silico molecular docking* method by tethering the 3D structure of 25 active compounds from *H. sabdariffa* L obtained from Pubchem, and target protein *IcsA S. flexneri* (5KE1) obtained from RCSB using a docking server with *Ciprofloxacin* as control.

**Results:** *H. sabdariffa* L compound has better affinity than *Ciprofloxacin*. The five compounds with the best free bond energy values are *Quercetin-3-rutinoside* (-9.21 kcal/mol), *Leucoside (kaempferol-3-O-sambioside)* (-8.83 kcal/mol), *Quercetine-3-glucoside* (-8.23 kcal/mol), *Tiliroside* (-7.86 kcal/mol), *Caffeoylquinic acid isomer (Isochlorogenic acid)* (-7.43 kcal/mol), the value of the inhibition constant is 178.61 nM, 337.61 nM, 924.29 nM, 1.15 uM, dan 1.69 uM, the value of the surface interactions is 525.416 Å, 751.689 Å, 564.99 Å, 803.103 Å, 572.111 Å, and the number of amino acid residues is 3,9,5,9,8.

**Conclusion:** *Quercetine-3-rutinoside*, *Leucoside (kaempferol-3-O-sambioside)*, *Quercetine-3-glucoside*, *Tiliroside*, *Caffeoylquinic acid isomer (Isochlorogenic)* can bind to *S. flexneri* and has the potential to be used as an anti-adhesion.

**Keywords:** Antiadhesion, *Hibiscus sabdariffa*, *Shigella flexneri*, *Fluoroquinolone ciprofloxacin*, *in silico*.

\*Correspondence:

Rio Risandiansyah, S.Ked., MP, PhD

Faculty of Medicine, University of Islam Malang

Address: Jl MT Haryono 193 Malang City, East Java Indonesia, 65145

Email: [riorisandiansyah@unisma.ac.id](mailto:riorisandiansyah@unisma.ac.id)

## PENDAHULUAN

Salah satu penyebab diare adalah infeksi oleh bakteri *Shigella* diantaranya *S. flexneri*, *S. dysenteriae*, *S. sonnei*, dan *S. boydii* yang dapat menyebabkan kram perut, diare, demam, dan bahkan peradangan usus. Diare yang muncul akibat bakteri ini sering bercampur darah<sup>[1]</sup>. *Shigellosis* sendiri adalah penyakit infeksi yang disebabkan oleh berbagai spesies *Shigella*<sup>[2]</sup>. Di Indonesia spesies yang banyak ditemukan adalah *S. flexneri*, *S. sonnei* dan *S. dysenteriae*<sup>[3]</sup>.

Untuk menyebabkan penyakit pada manusia, *Shigella* harus melakukan paparan, adhesi, invasi, dan kolonisasi. Proses adhesi merupakan tahap awal infeksi bakteri yang berperan dalam kolonisasinya pada permukaan sel inang, serta merupakan salah satu proses penting dalam infeksi bakteri ini<sup>[4]</sup>. Proses adhesi ini diawali oleh garam empedu (deoxycolat) yang memicu aktivasi molekul bakteri yang meliputi T3SS, *IcsA*, dan mensekresi OsPE1 dan OsPE2 di outer membran. OsPE1 dan OsPE2 dalam bakteri berfungsi untuk menginisiasi terjadinya adhesi, disisi lain *IcsA* berperan sebagai adhesin atau agen penempelan bakteri pada mucosa epitel colon. Aktivasi T3SS memicu aktivitas IpaB dan IpaC yang diperantarai oleh IpaD. IpaB dan IpaC membentuk needle tip complex yang berfungsi membuat lubang pada membrane host sehingga materi bakteri bisa disisipkan kedalam membran inang sehingga terjadi invaksi bakteri<sup>[5]</sup>. Kemampuan bakteri untuk adhesi pada sel inang juga tergantung struktur atau molekul yang dapat menempel atau adhesi yang disebut adhesin<sup>[6]</sup>. Salah satu herbal yang diketahui bersifat menghambat adhesi dan pembentukan biofilm adalah *H. sabdariffa L.* Tanaman ini telah diteliti sebagai pencegah infeksi UTI (infeksi saluran kemih) yang disebabkan oleh bakteri<sup>[7]</sup>.

Hal diatas menjelaskan bahwa proses adhesi merupakan proses penting dalam infeksi bakteri ini dan *H. sabdariffa L* merupakan salah satu herbal yang memiliki fungsi sebagai antiadhesi. Namun, belum diketahui secara pasti mengenai potensi antiadhesi herbal ini terhadap bakteri *S. flexneri*, sehingga penelitian ini bertujuan untuk mengetahui lebih lanjut mengenai ikatan antara *H. sabdariffa L* dengan protein target *IcsA*. Penelitian ini dilakukan melalui pendekatan *in silico*, dengan menambatkan ligan dari senyawa zat aktif *H. sabdariffa L* dengan protein target *IcsA* menggunakan kontrol obat *Ciprofloxacin* yang kemudian mencari senyawa aktif dengan nilai afinitas terbaik. Dengan dilakukannya penelitian ini diharapkan dapat

melihat atau mengetahui jenis senyawa yang paling berpotensi sebagai antiadhesi.

## METODE PENELITIAN

### Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode komputasi *molecular docking (in silico)* dengan penambatan senyawa aktif kelopak Rosella (*Hibiscus sabdariffa L*) sebanyak 25 senyawa aktif menurut (Da-costa-rocha, I. *et al.* 2014) yang tercantum dalam tabel 1. terhadap protein target *IcsA* sebagai anti adhesi bakteri *Shigella flexneri*. Struktur 3D 25 senyawa aktif dari Rosella didapatkan dari Pubchem, dan protein target *IcsA* dari *S. flexneri* (5KE1) didapatkan dari RCSB. Molecular docking untuk penambatan dilakukan menggunakan *docking server* seperti pada penelitian (Oani AR, 2018) dengan kontrol *Ciprofloxacin*.

**Tabel 1. Daftar kontrol, senyawa aktif, dan protein target yang digunakan dalam penelitian ini.**

Golongan	Nama Struktur 3D
Kontrol Obat	<i>Fluoroquinolone ciprofloxacin</i>
Ligan	<i>Galic Acid</i>
	<i>Chlorogenic acid</i>
	<i>5-hydroxymethylfurfural</i>
	<i>Methyl gallate</i>
	<i>2-O-trans Caffeoyl-hydroxycitric acid</i>
	<i>5-Caffeoylquinic acid</i>
	<i>Protocatechuic acid glucoside</i>
	<i>Coumaroylquinic acid</i>
	<i>Kaemferol-3glucoside</i>
	<i>Galloyl ester (Epicatechin-2-O-gallate)</i>
	<i>Caffeic acid</i>
	<i>Quercetin</i>
	<i>Quercetin-3-rutinoside</i>
	<i>Cyclohexanecarboxylic acid</i>
	<i>4-((3,4-dihydroxyphenyl)-1-oxo-2opropenyl)oxy)-1,3,5-trihydroxy</i>
	<i>Myricetin</i>
	<i>5-O-Caffeoylshikimic acid</i>
	<i>Feruloyl derivat (1-O-Feruloyl-beta-D-glucose)</i>
	<i>Quercetin-3-sambioside</i>
	<i>Kaemferol-3-O-rutinoside</i>
	<i>Leucoside (Kaemferol-3-O-sambubioside)</i>
	<i>Tiliroside</i>

*Feruloyl quinic acid derivative (4-O-Feruloyl-D-quinic acid)*  
*Caffeoylquinic acid isomer (Isochlorogenic acid)*  
*Quercetin-3-glucoside*  
*Quercetin derivative*

Protein Target *IcsA Shigella flexneri (5KE1)*

### Instrumen Penelitian

Penelitian ini menggunakan instrumen berupa komputer dengan spesifikasi Random Access Memory (RAM) 8056 MB, Intel® core™ I5, CPU @2.60 Gigahertz (GHz), Sistem operasi Microsoft Windows 10 Pro 64-bit, koneksi internet, software PyRx, dan software berbasis web pada docking server (<http://www.dockingserver.com>). dalam melakukan penambatan dibutuhkan molekul senyawa aktif *Hibiscus sabdariffa L*, dan struktur protein target *IcsA*. Senyawa zat aktif *Hibiscus sabdariffa L* yang digunakan yaitu golongan Flavonoid

### Uji *in silico* Senyawa Aktif Flavonoid kelopak bunga Reslla terhadap protein adhesi *IcsA Shigella flexneri*

Senyawa ligan diunduh di PubChem kemudian dilakukan uji *molecular docking* menggunakan docking server. Docking server dapat diakses di (<http://www.dockingserver.com>)<sup>[8]</sup>.

### Analisa Data Penambatan

Analisa data yang digunakan yaitu melihat nilai interaksi permukaan, energi ikatan bebas, residu asam amino dan konstanta inhibisi antara ligan dan protein target dan merupakan hasil penambatan protein bakteri *IcsA*, dengan senyawa aktif herbal Rosella (*Hibiscus sabdariffa L*). Nilai interaksi permukaan yang baik ditunjukkan dengan nilai yang tinggi, energi bebas ikatan yang baik ditunjukkan dengan nilai yang terendah, nilai konstanta inhibisi yang baik ditunjukkan dengan nilai skoring yang terendah, serta residu asam amino terbaik ditunjukkan oleh residu terbanyak<sup>[8]</sup>.

## HASIL PENELITIAN

### Potensi Antiadhesi Senyawa Aktif Flavonoid Kelopak Bunga Rosella Terhadap Protein Target *IcsA Shigella flexneri*

Potensi ikatan senyawa aktif golongan flavonoid kelopak bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) dengan protein target *IcsA Shigella flexneri* diketahui melalui metode molecular docking.

Hasil molecular docking senyawa aktif flavonoid kelopak bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) terhadap protein target *IcsA Shigella flexneri* dapat dilihat pada Tabel 2, Sedangkan Tabel 3 akan menampilkan lima senyawa dengan afinitas tertinggi dan lebih baik dibandingkan dengan kontrol.

Afinitas yang dihasilkan dari interaksi lima senyawa aktif terbaik antara lain adalah *Quercetin-3-rutinoside*, *Leucoside (kaempferol-3-O-sambubioside)*, *Quercetin-3-glucoside*, *Tiliroside*, *Caffeoylquinic acid isomer (Isochlorogenic acid)* dengan *Quercetin-3-rutinoside* adalah senyawa dengan afinitas tertinggi dengan nilai energi ikatan bebas sebesar -9,21 kcal/mol sedangkan kontrol obat *Fluoroquinolone ciprofloxacin* ialah -6,51 kcal/mol.

Nilai energi ikatan bebas ini sejalan dengan konstanta inhibisi yang didapatkan dimana *Quercetin-3-rutinoside* senyawa dengan  $K_i$  terkecil atau terbaik sebesar 178,61 nM sedangkan konstanta inhibisi dari kontrol adalah sebesar 19,94  $\mu$ M, kemudian diikuti empat senyawa lain yaitu *Leucoside (kaempferol-3-O-sambubioside)* dengan konstanta inhibisi 337.11 nM, *Quercetin-3-glucoside* dengan konstanta inhibisi 924.29 nM, *Tiliroside*, dengan konstanta inhibisi 1.75  $\mu$ M, serta *Caffeoylquinic acid isomer (Isochlorogenic acid)* yang memiliki konstanta inhibisi sebesar 3.60  $\mu$ M.

Residu asam amino yang diikat oleh lima senyawa aktif terbaik ini walaupun memiliki asam amino yang berbeda namun ikatan yang terbentuk cenderung sama dengan kontrol yaitu ikatan hidrogen, ikatan polar, dan juga ikatan halogen, dan hanya ada satu ikatan yang tidak terdapat pada senyawa ini yaitu ikatan halogen.

**Tabel 2. Hasil Analisis Energi Ikatan Bebas ( $\Delta G$ ) dan Konstanta Inhibisi ( $K_i$ ) 25 senyawa aktif Rosella**

Ligan	Energi Ikatan Bebas (kcal/mol)	Konstanta Inhibisi ( $K_i$ )
<i>Quercetin-3-rutinoside</i>	-9.21	178.61 nM
<i>Leucoside (Kaempferol-3-O-sambubioside)</i>	-8.83	337.11 nM
<i>Quercetin-3-glucoside</i>	-8.23	924.29 nM
<i>Kaempferol-3-O-rutinoside</i>	-8.10	1.15 $\mu$ M
<i>Quercetin-3-sambioside</i>	-7.87	1.69 $\mu$ M
<i>Tiliroside</i>	-7.86	1.75 $\mu$ M

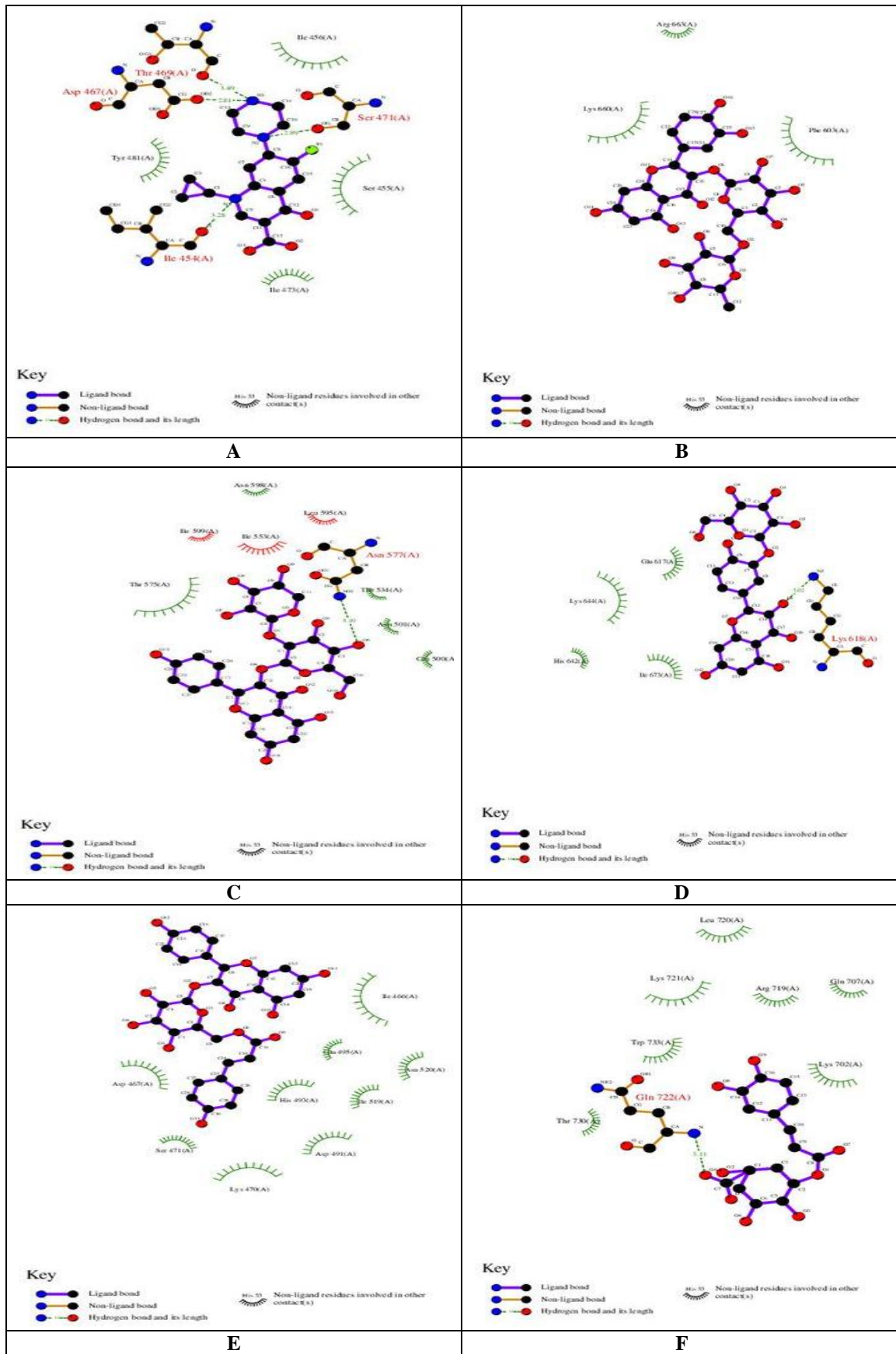
\*lanjutan tabel pada halaman selanjutnya

Ligan	Energi Ikatan Bebas (kcal/mol)	Konstanta Inhibisi (Ki)		
<i>Caffeoylquinic acid isomer (Isochlorogenic acid)</i>	-7.43	3.60 uM	<i>5-O-Caffeoylshikimic acid</i>	-5.60 78.54 uM
<i>Cyclohexanecarboxylic acid 4-((3,4-dihydroxyphenyl)-1-oxo-2opropenyl)oxy)-1,3,5-trihydroxy</i>	-7.28	4.63 uM	<i>Feruloyl derivat (1-O-Feruloyl-beta-D-glucose)</i>	-5.49 94.08 uM
<i>5-Caffeoylquinic acid</i>	-7.01	7.28 uM	<i>Feruloyl quinic acid derivative (4-O-Feruloyl-D-quinic acid)</i>	-5.43 105.37 uM
<i>Coumaroylquinic acid</i>	-6.15	30.84 uM	<i>Quercetin derivative Quercetin</i>	-5.41 108.22 uM
<i>Myricetin</i>	-6.13	31.92 uM	<i>2-O-trans Caffeoyl-hydroxycitric acid</i>	-5.36 118.61 uM
<i>Kaemferol-3glucoside</i>	-6.07	35.55 uM	<i>Caffeic acid</i>	-5.08 190.25 uM
<i>Chlorogenic acid</i>	-5.96	42.61 uM	<i>Galic Acid</i>	-5.06 196.24 uM
<i>Protocatechuic acid glucoside</i>	-5.79	57.10 uM	<i>Methyl gallate</i>	-4.39 609.50 uM
<i>Galloyl ester (Epicatechin-2-O-gallate)</i>	-5.72	64.52 uM	<i>5-hydroxymethylfurfural</i>	-4.34 660.25 uM
				-3.90 1.39 mM

\*lanjutan tabel pada sebelah kanan

**Tabel 3. Hasil Analisis Energi Ikatan Bebas ( $\Delta G$ ), Konstanta Inhibisi (Ki), Nilai Interaksi Permukaan, dan Residu Asam Amino Senyawa Aktif flavonoid kelopak bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) dan Floroquinolone ciprofloxacin terhadap IcsA *Shigella flexneri***

Ligan	Energi ikatan bebas (kcal/mol)	Konstanta Inhibisi	Interaksi Permukaan ( $\text{\AA}$ )	Residu Asam Amino	Jumlah residu asam amino
<i>Floquinolone ciprofloxacin</i>	-6.51	16.94 uM	555.976	Hidrogen: THR469, ILE454, ASP467, SER471 Polar: TYR481 Halogen: ILE456 Hidropobik: ILE473 Lain-lainnya: SER455	8
<i>Quercetin-3-rutinoside</i>	-9.21	178.61 nM	525.416	Polar: ARG663 Hidrofobik: PHE603 Lain-lainnya: LYS660	3
<i>Leucoside(kaempferol-3-O-sambubioside)</i>	-8.83	337.11 nM	751.689	Hidrogen: ASN577 Polar: THR575, GLU500, THR534 Hidrofobik: ILE553 Lain-lainnya: ASN598, ASN501, ILE599, LEU595	9
<i>Quercetin-3-glucoside</i>	-8.23	924.29 nM	564.99	Hidrogen: LYS618 Polar: HIS642 Hidrofobik: ILE673 Lain-lainnya: LYS644, GLU617	5
<i>Tilioside</i>	-7.86	1.75 uM	803.103	Polar: ASP467, SER471, GLU495 Hidrofobik: ILE466, HIS493 Lain-lainnya: LYS470, ASP491, ASN520, ILE519	9
<i>Caffeoylquinic acid isomer (Isochlorogenic acid)</i>	-7.43	3.60 uM	572.111	Hidrogen: GLN722 Polar: LYS721, LYS702, ARG719, GLN707 Hidrofobik: TRP733 Lain-lainnya: LEU720, THR730	8



**Gambar 1. Visualisasi Interaksi Kontrol, Ligan dan Protein**

Gambar 1 menunjukkan interaksi kontrol dan 5 senyawa dengan afinitas terbaik terhadap protein target *IcsA Shigella flexneri* yang diperoleh dari proses docking menggunakan web [www.dockingserver.com](http://www.dockingserver.com). (A) Gambar ikatan ligan *Floroquinolone ciprofloxacin* dengan protein adhesi *IcsA Shigella flexneri*, (B) Gambar ikatan senyawa aktif *Quercetin-3-rutinoside* dengan protein adhesi *IcsA Shigella flexneri*, (C) Gambar ikatan senyawa aktif *Leucoside(kaempferol-3-O-sambubioside)* dengan protein adhesi *IcsA Shigella flexneri*, (D) ikatan senyawa aktif *Quercetin-3 glucoside* dengan protein adhesi *IcsA Shigella flexneri*, (E) Gambar ikatan senyawa aktif *Tiliroside* dengan protein adhesi *IcsA Shigella flexneri* (F) ikatan senyawa aktif *Caffeoylquinic acid isomer (Isochlorogenic acid)* dengan protein adhesi *IcsA Shigella flexneri*

## PEMBAHASAN

### Penilaian Potensi Antiadhesi Senyawa Aktif Flavonoid Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) Terhadap Protein Target *IcsA Shigella flexneri*

Potensi antiadhesi senyawa aktif kelopak bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) diperoleh melalui metode molecular docking, metode ini bertujuan untuk memprediksi ikatan antara ligan dari senyawa aktif flavonoids dengan protein target *IcsA* pada bakteri *Shigella flexneri* dengan melihat afinitas dan interaksi antar ikatan. Molecular docking merupakan prosedur komputasi untuk melihat apakah suatu senyawa/obat dapat menimbulkan efek biologis ketika ligan berikatan dengan reseptor spesifik dan menimbulkan interaksi obat/ligan reseptor<sup>[9]</sup>. Afinitas merupakan kemampuan ligan/obat berikatan dengan reseptor target protein. Afinitas ikatan ligan-protein pada *molecular docking* dapat dinilai dari empat parameter seperti energi ikatan bebas, konstanta inhibisi, interaksi permukaan, dan residu asam amino<sup>[10]</sup>.

Energi ikatan bebas (*free energy of binding / ΔG*) merupakan energi yang digunakan untuk membentuk ikatan. Ikatan dikatakan semakin spontan dan stabil jika nilai energi ikatan bebas semakin rendah. Nilai energi ikatan bebas juga dapat mempengaruhi afinitas ikatan atau kemampuan dalam berikatan. Semakin rendah nilai energi ikatan bebas maka nilai afinitas ikatan ligan dan reseptor semakin tinggi. Nilai energi ikatan bebas yang rendah mampu berikatan dengan protein target dengan kuat dan menimbulkan potensi aktifitas biologis<sup>[11]</sup>.

Interaksi permukaan (*surface interaction*) merupakan peluang terjadinya pengenalan ligan dan protein target yang akan mempengaruhi ikatan antara ligan dan protein target. Interaksi permukaan dipengaruhi oleh ukuran molekul ligan, semakin luas permukaan molekul semakin tinggi peluang untuk terjadinya ikatan antara ligan dan protein target<sup>[12]</sup>.

Konstanta inhibisi (*Inhibition constant = Ki*) merupakan nilai yang menunjukkan hambatan antara ligan dan protein target. Semakin rendah nilai konstanta inhibisi menunjukkan semakin kecil hambatan yang terjadi dalam ikatan ligan-protein. Kompleks senyawa-reseptor dikatakan memiliki afinitas ikatan yang baik jika memiliki nilai *Ki* pada skala nanomolar<sup>[13]</sup>.

Residu asam amino merupakan data yang menggambarkan kesamaan active site senyawa aktif dengan control<sup>[10]</sup>. Senyawa aktif diperkirakan

memiliki ikatan yang kuat dengan reseptor target jika dapat berikatan kuat melalui ikatan hidrogen dan dapat berikatan dengan salah satu residu asam amino yang sama dari sisi aktif<sup>[11]</sup>. Ikatan hidrogen dihasilkan dari gaya fisik yang sama seperti semua interaksi antarmolekul. Dua monomer ketika bersatu membentuk ikatan hidrogen, struktur ini kemungkinan besar akan memiliki energi potensial permukaan yang minimum<sup>[12]</sup>.

### Afinitas Senyawa Aktif Fluoroquinolone Ciprofloxacin

Terapi antiadhesi secara umum diketahui efektif dalam mengganggu pembentukan reseptor inang, perakitan adhesi, atau biosintesis adhesi dari bakteri. Antibodi atau agen dalam melawan adhesi bakteri diketahui dapat memblokir epitop permukaan yang diperlukan untuk proses pengikatan protein bakteri dengan sel inang. Agen ini memiliki kemampuan dalam menargetkan sifat virulensi bakteri seperti adhesi, kolonisasi, invasi, dan produksi racun<sup>[14]</sup>. Penelitian ini menggunakan *Fluoroquinolone ciprofloxacin* yang merupakan salah satu pilihan pengobatan antibiotik terhadap *Shigella flexneri*. *Fluoroquinolone ciprofloxacin* diduga kuat memiliki kemampuan dalam menghambat proses adhesi dengan cara mengubah sifat fisiokimia permukaan bakteri sehingga dapat menurunkan adhesi bakteri ke sel inang<sup>[15]</sup>. Hal ini menjadi dasar penggunaan *Fluoroquinolone ciprofloxacin* sebagai kontrol dalam penelitian ini.

### Molecular Docking Senyawa Aktif Flavonoids Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) Terhadap Protein Target *IcsA Shigella flexneri*

Hasil molecular docking 25 senyawa aktif herbal Rosella menunjukkan hasil yang baik dengan lima senyawa yang memiliki nilai afinitas terbaik dibandingkan dengan kontrol obat *Fluoroquinolone Ciprofloxacin* yang dinilai dari empat parameter yakni energi ikatan bebas, konstanta inhibisi, nilai interaksi permukaan dan residu asam amino.

Senyawa dengan nilai energi ikatan bebas terkecil adalah *Quercetin-3-rutinoside* dengan nilai sebesar -9,21 diikuti dengan *Leucoside(kaempferol-3-O-sambubioside)* -8,83 *Quercetin-3-glucoside* -8,23, *Tiliroside* -7,86, *Caffeoylquinic acid isomer (Isochlorogenic acid)* -7,43, yang berarti bahwa ke lima senyawa ini dapat berikatan dengan spontan dan dapat berikatan dengan stabil melebihi kontrol dan senyawa lainnya, hal ini sesuai dengan penelitian terkait yang menyatakan bahwa afinitas ikatan ligan dengan protein dikatakan baik apabila mencapai nilai -7 kcal/mol atau lebih kecil<sup>[16]</sup>. Nilai konstanta inhibisi ke lima senyawa ini pun seirama dengan energi ikatan bebasnya dengan *Ki*

*Quercetine-3-rutinoside* adalah 178.61 nM, *Leucoside (kaempferol - 3 - O - sambubioside)* sebesar 337.11 nM, *Quercetin-3-glucoside* sebesar 924.29 nM, *Tiliroside* sebesar 1.75 uM, dan nilai konstanta inhibisi *Caffeoylquinic acid isomer (Isochlorogenic acid)* adalah 3.60 uM, sehingga ke 5 hasil ini merupakan  $K_i$  yang lebih baik dibandingkan dengan kontrol *Fluoroquinolone ciprofloxacin* yang memiliki konstanta inhibisi sebesar 16.94 uM. Hal ini membuktikan bahwa senyawa ini dapat berikatan dengan stabil mengingat semakin rendah nilai konstanta inhibisi menunjukkan semakin kecil hambatan yang terjadi dalam ikatan ligan-protein, kemudian kompleks senyawa-reseptor dikatakan memiliki afinitas ikatan yang baik jika memiliki nilai  $K_i$  pada skala nanomolar<sup>[13]</sup>. Pada penelitian ini terdapat tiga senyawa dengan konstanta inhibisi nanomolar dan dua mikromolar,  $K_i$  yang bukan nanomolar tetaplah bisa berikatan dengan baik dan stabil karena nilainya yang lebih kecil dibandingkan dengan kontrol.

Nilai interaksi permukaan yang dihasilkan pada lima senyawa ini berbeda-beda, empat senyawa dengan nilai interaksi permukaan lebih besar adalah *Leucoside (kaempferol-3-O-sambubioside)* dengan nilai sebesar 751.689, *Quercetin-3-glucoside* dengan nilai 564.99, *Tiliroside* dengan nilai 803.103 dan *Caffeoylquinic acid isomer (Isochlorogenic acid)* dengan nilai 572.111 jika dibandingkan dengan kontrol *Fluoroquinolone ciprofloxacin* dengan nilai interaksi permukaan sebesar 555.976 hal tersebut menunjukkan empat senyawa ini memiliki potensi yang lebih besar dalam berikatan dengan protein target mengingat semakin luas permukaan molekul semakin tinggi peluang untuk terjadinya ikatan antara ligan dan protein target<sup>[10]</sup>.

Residu asam amino pada ke lima senyawa ini dikatakan baik pada dua senyawa diantaranya adalah *Leucoside (kaempferol-3-O-sambubioside)*, *Quercetin-3-glucoside* dan *Caffeoylquinic acid isomer (Isochlorogenic acid)*. Ketiga senyawa ini memiliki ikatan hidrogen yang memungkinkan ikatan dapat terjadi dengan kuat, hal ini sejalan dengan penelitian terkait yang menyatakan, dengan adanya ikatan hidrogen yang dihasilkan saat proses penambatan dan tingginya kesamaan residu asam amino dibandingkan kontrol diprediksi memiliki ikatan yang kuat<sup>[17]</sup>.

Penelitian ini memiliki kelemahan yaitu hanya menunjukkan nilai afinitas ikatan protein target dan ligan saja sehingga tidak dapat mengetahui mekanisme kerja pasti yang dihasilkan dari ikatan tersebut. Oleh karena itu studi *in silico* merupakan

penelitian awal untuk melihat potensi ikatan antar senyawa.

### Kesimpulan

Berdasarkan hasil studi *in silico* didapatkan hasil bahwa senyawa flavonoids (*Quercetin-3-rutinoside*, *Leucoside(kaempferol-3-O-sambubioside)*, *Quercetin-3-glucoside*, *Tiliroside*, dan *Caffeoylquinic acid isomer (Isochlorogenic acid)*) memiliki nilai afinitas yang lebih baik dibandingkan dengan kontrol *Fluoroquinolone ciprofloxacin*, sehingga disimpulkan bahwa senyawa aktif kelopak bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) dapat berikatan dengan baik pada protein target *IcsA Shigella flexneri* melalui mekanisme yang berbeda ataupun sama dengan kontrol, hal ini membuktikan senyawa aktif herbal Rosella *Hibiscus sabdariffa* diprediksi berpotensi sebagai agen antiadhesi yang baik.

### Saran

Berdasarkan pembahasan, penelitian ini memiliki kelemahan yang dapat disempurnakan dengan :

1. Dilakukan penambatan ligan selain flavonoid yang berpotensi tinggi sebagai anti adhesi dengan protein adhesi *S. flexneri*.
2. Dilakukan penelitian lanjutan secara *in vitro* untuk melihat potensi antiadhesi *H. sabdariffa L* pada *S. flexneri*.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan kepada Ikatan Orang Tua Mahasiswa (IOM) dan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang, serta tim kelompok penelitian yang telah membantu penelitian ini.

### DAFTAR PUSTAKA

1. Whardani Lk, Sulistyani N. 2012. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Binahong (*Anredera Scandens* (L.) Moq.) Terhadap *Shigella Flexneri* Beserta Profil Kromatografi Lapis Tipis. Jurnal Ilmiah Kefarmasian. Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta. Vol. 2, No. 1, 2012 : 1-16.
2. Jawetz, E., Melnick, J.L. & Adelberg, E.A., 2005, Mikrobiologi Kedokteran, diterjemahkan oleh Mudihardi, E., Kuntaman, Wasito, E. B., Mertaniasih, N. M., Harsono, S., Alimsardjono, L., Edisi XXII, 327-335, 362-363, Penerbit Salemba Medika, Jakarta.
3. Tjaniadi P, Lesmana M, Subekti D, et al. 2003. Antimicrobial Resistance Of Bacterial Pathogens Associated With Diarrheal Patients

- In Indonesia. The American journal of tropical medicine and hygiene. 68(6):666-70.
4. Wibawan, Lammer, Lautrou, Warsa. 1992 Serotyping and Further Characterization Of Group B Streptococcal Isolates From Indonesia. *Zentralbl Bakteriol.* Vol.277(2): 260-266.
  5. Schroeder GN, Hilbi H. 2008. Molecular pathogenesis of *Shigella* spp. controlling host cell signaling, invasion, and death by type III secretion. *Clin Microbiol Rev.* 134-156. doi:10.1128/CMR.00032-07
  6. Khusnan dan Salasia, S.I.O. (2006). Respon Neutrofil, Adesi pada Sel Epitel, Aglutinasi Eritrosit Terhadap *Staphylococcus aureus* : Kajian Hidrofobitas In Vitro. *J. Sain Vet.*(1): 102-108.
  7. Mohamed-Salem, R., Rodríguez, F.C., Nieto-Peigrín E., Conde-Valentín B., Rumbero A, and Martinez-Quiles N, 2019. Aqueous extract of *Hibiscus sabdariffa* inhibits pedestal induction by enteropathogenic *E. coli* and promotes bacterial filamentation in vitro. *PLOS ONE*, 14(3): e0213580.
  8. Firmasyah, R.R. 2015. “Efek Antihipertensi Dekokta Daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens*) Melalui Penghambatan tACE (Studi In Silico)”. Malang : Fakultas Kedokteran UNISMA.
  9. Latour RA. Perspectives on the simulation of protein–surface interactions using empirical force field methods. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2014.1(0):25–37.
  10. Mubarika, S.A.Z., Dewi, A.R., and Damayanti D.Sri, 2019. In Silico Study: Anthelmintic Potential of Garlic’s Active Compound (*Allium sativum* L.) by inhibiting Acetylcholinesterase, Beta tubulin and activate Voltage dependent L type Calcium Channel. Faculty of Medicine University of Islam Malang. 83-93.
  11. Purnomo R.Y., Hakim R., and Damayanti D.S. Antimalarial Potential of Azadiractin, Gedunin, and Nimbolideto Bind PfATP6and Inhibit Lactate Dehydrogenase : In Silico Study. Faculty of Medicine University of Islam Malang. 2019. 199-204.
  12. Szalewicz, K. Hydrogen Bond. *Encyclopedia of Physical Science and Technology.* 2003. 505–538.
  13. Mardianingrum R., Herlina T., and Supratman U. Isolasi dan Molecular Docking Senyawa 6,7-Dihidro-17-Hidroksierisotrin dari Daun Dadap Belendung (*Erythrina poeppigiana*) Terhadap Aktivitas Sitotoksik Antikanker Payudara MCF-7. *Chimica et Natura Acta.* 2015. 3(3) : 90-93.
  14. Asadi, A., Razavi, S., Talebi, M. *et al.* A review on anti-adhesion therapies of bacterial diseases. *Infection.* 2019. 47 : 13–23.
  15. Krachler, A. M., and Orth, K. Targeting the bacteria-host interface: strategies in anti-adhesion therapy. *Virulence.* 2013. 4(4) : 284–294.
  16. Damayanti DS, Utomo DH, Kusuma C. 2017. Revealing the potency of *Annona muricata* leaves extractas FOXO1 inhibitor for diabetes mellitus treatment throughcomputational study.In *Silico Pharmacol*;5(3):1-7
  17. Bintari YR. Studi In Silico Potensi Ekstrak Lipida Tetraselmis chunii sebagai Antioksidan. Malang. Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang. 2018.2(1);76-81



