

POTENSI SENYAWA AKTIF BUNGA ROSELLA (*Hibiscus sabdariffa*) SEBAGAI ANTI-ADHESI DALAM MENGHAMBAT PROTEIN TARGET FimH DAN PapG BAKTERI *Escherichia coli*

Eko Hari Prasetyo, Rio Risandiansyah, Reza Hakim*
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan: Penghambatan infeksi *Escherichia coli* dapat dilakukan dengan menghambat penempelan dari bakteri pada sel inang. Senyawa aktif bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa*) yang memiliki potensi sebagai anti-adhesi pada bakteri *E. coli*, namun masih belum diketahui senyawa aktif dan mekanisme yang bekerja. Pada penelitian ini bertujuan untuk memprediksi potensi senyawa aktif bunga rosella sebagai anti-adhesi dengan mekanisme penghambatan protein Adhesin FimH dan PapG secara *in silico*.

Metode: Penelitian dilakukan secara penambatan molekul. Afinitas senyawa aktif bunga rosella terhadap protein FimH dan PapG diukur menggunakan *website docking server* dengan parameter energi ikatan bebas, luas permukaan, konstanta inhibisi dan residu asam amino. Kontrol terhadap FimH adalah Methyl alpha-D-mannopyranoside dan kontrol terhadap PapG adalah D-Galactose.

Hasil: Pada hasil kontrol Methyl alpha-D-mannopyranoside didapatkan nilai energi ikatan bebas (ΔG) -5,20 kkal/mol, luas permukaan 435.852 Å, konstanta inhibisi 182,10 µM serta 11 residu asam amino. Hasil kontrol D-Galactose didapatkan ΔG -7,08 kkal/mol luas permukaan 343,949 Å, konstanta inhibisi 6,43 µM serta 4 residu asam amino. Senyawa aktif memiliki afinitas yang terbaik terhadap FimH antara lain Quercetin-3-rutinoside dengan ΔG -9,61 kkal/mol, Leucoside(kaempferol-3-O-sambubioside) ΔG -9,12 kkal/mol, Kaempferol-3-glucoside ΔG -8,17 kkal/mol. Senyawa aktif memiliki afinitas yang tinggi terhadap PapG antara lain Quercetin-3-rutinoside ΔG -9,24 kkal/mol, Leucoside(kaempferol-3-O-sambubioside) ΔG -9,09 kkal/mol, Kaempferol-3-O-rutinoside (Nicotiflorin) ΔG -8,66 kkal/mol. Ketiga senyawa terbaik memiliki luas permukaan lebih tinggi dari kontrol, memiliki konstanta inhibisi lebih kecil dibandingkan kontrol serta memiliki kesamaan residu asam amino sama dibandingkan kontrol.

Kesimpulan: Senyawa aktif bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa*) derivat quercetin dan kampferol diprediksi dapat menghambat adhesi *E. coli* dengan berikatan pada sisi aktif protein FimH dan PapG.

Kata Kunci : Anti-adhesi; *Hibiscus sabdariffa*; *in silico*.

POTENTIAL ACTIVE COMPOUNDS OF ROSELLA FLOWER (*Hibiscus sabdariffa*) AS ANTI-ADHESI IN INHIBIT PROTEIN OF FimH AND PapG BACTERIA *Escherichia coli*

Eko Hari Prasetyo, Rio Risandiansyah, Reza Hakim*
Faculty of Medicine University of Islam Malang

ABSTRACT

Introduction: Inhibition of *Escherichia coli* infection can be done by inhibiting the ingestion of bacteria in host cells. The active compound of rosella flower (*Hibiscus sabdariffa*) which has the potential as anti-adhesion to *E. coli* bacteria, but the active compound and the mechanism that works are still unknown. This study aims to predict the potential of the active compound of rosella flower as an anti-adhesion with an *in silico* mechanism of inhibition of Adhesin FimH and PapG proteins.

Method: This research is molecular docking. The affinity of the rosella flower active compounds for protein FimH and PapG was measured using a *website docking server* with parameters are free bond energy, surface area, konstanta inhibisi and amino acid residues. The control for FimH is Methyl alpha-D-mannopyranoside and the control for PapG is D-Galactose.

Results: the control results of Methyl alpha-D-mannopyranoside, the free bond energy value (ΔG) -5.20 kcal/mol, surface area was 435.852 Å, inhibition constant 182.10 µM and 11 amino acid residues. D-Galactose control results obtained ΔG -7.08 kcal/mol, surface area 343.949 Å, inhibition constant 6.43 µM and 4 amino acid residues. The active compounds that have the best affinity for FimH include Quercetin-3-rutinoside with ΔG -9.61 kcal/mol with amino acid equation, Leucoside(kaempferol-3-O-sambubioside) ΔG -9.12 kcal/mol, Kaempferol-3-glucoside ΔG -8.17 kcal/mol. Active compounds that have a high affinity for PapG include Quercetin-3-rutinoside ΔG -9.24 kcal/mol, Leucoside(kaempferol-3-O-sambubioside) ΔG -9.09 kcal/mol, Kaempferol-3-O-rutinoside (Nicotiflorin) ΔG -8.66 kcal/mol. The three best compounds had a higher surface area than the control, had a lower inhibition constant than the control and had the same amino acid residue as the control.

Conclusion: The active compounds of rosella flower (*Hibiscus sabdariffa*) derived from quercetin and campferol are predicted to inhibit *E. coli* adhesion by binding to the active sites of FimH and PapG proteins.

Keywords: anti-adhesi; *Hibiscus sabdariffa*; *in silico*.

*Correspondence:

Rio Risandiansyah

Faculty of Medicine, University of Islam Malang

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

PENDAHULUAN

Escherichia coli adalah bakteri gram negatif berbentuk batang yang menginfeksi saluran kemih dan saluran pencernaan¹. Suatu penelitian dengan sampel 1000 pasien rawat inap di rumah sakit menunjukkan bahwa *E. coli* penyebab utama bakteremia, dan memiliki angka mortalitas sampai 48%. Bahkan sering dijumpai adanya resistensi atau *Multi drug resistance (MDR)*². Maka dari itu perlu salah satu inovasi baru yang dapat dilakukan menemukan obat profilaksis yang bertujuan untuk menghambat atau mencegah infeksi bakteri *E. coli*.

Proses infeksi *E. coli* memiliki beberapa tahapan diantaranya tahap penempelan atau Adhesi, tahap kolonisasi dan pembentukan biofilm, dapat juga dilanjutkan pada tahap invasi ke organ lain jika memungkinkan. Dalam mekanisme adhesi, bakteri *E.coli* menggunakan organ pelekut berupa flagella atau pili untuk mengenali reseptor pada epitel inang³. *E.coli* menempel pada epitel inang melalui adhesin FimH dan PapG yang merupakan protein adhesin terpenting dalam proses adhesi *E. coli*, kedua protein tersebut 90% diekspresikan oleh bakteri *E.coli* untuk proses adhesi, dibandingkan dengan protein adhesi lainnya⁴. FimH dan PapG memiliki fungsi sebagai protein adhesi biotik, yaitu penempelannya yang terfokus pada sel epitel inang saja^{1,4}. Fase adhesi bakteri merupakan langkah awal sebelum kolonisasi dan invasi terjadi, oleh karena itu, memblokir adhesin bakteri adalah strategi yang efektif untuk menjaga inang tetap aman dari infeksi. Terapi dengan mekanisme anti-adhesi akan memiliki keunggulan jika dibandingkan dengan antibiotik klasik yang dimana pemblokiran patogenisitas tanpa menghancurkan bakteri, sehingga akan menurunkan kemungkinan terjadinya resistensi dan juga akan memiliki efek sinergis dalam terapi apabila diberikan bersama-sama dengan antibiotik⁶.

Salah satu sumber alami yang diduga mengandung senyawa aktif yang dapat berperan sebagai anti-adhesi adalah bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa*). Berdasarkan penelitian secara *in silico* diperoleh data kelopak bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) memiliki banyak senyawa aktif yang dapat digunakan sebagai agen anti-adhesi pada bakteri Gram negatif⁵. Uji fitokimia pada ekstrak bunga rosella menemukan senyawa

aktif flavonoid terutama derivat kaempferol dan quercetin⁶.

Mekanisme kerja dari senyawa aktif bunga Rosella sebagai anti-adhesi belum diketahui, terutama untuk bakteri *E. coli*. Penelitian ini akan menguji adhesin yang dimiliki oleh *E. coli* yaitu FimH dan papG dengan pendekatan *in silico*. Hasil dari *molecular docking* akan diukur luas permukaan, nilai konstanta inhibisi (Ki), nilai energi ikatan bebas, dan ikatan residu asam amino sehingga kemampuan dan mekanisme kerja dari senyawa aktif akan diketahui⁸.

METODE PENELITIAN

Desain Penelitian

Metode *in silico* digunakan dalam penelitian ini dengan cara melakukan penambatan molekul, antara ligan atau kontrol dengan protein target FimH dan PapG.

Waktu Penelitian

Proses penelitian dilakukan pada bulan November sampai Desember 2021 di Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang.

Alat

Penelitian ini menggunakan alat berupa Macbook Air Retina 2020 RAM 8 GB, Intel dual-core™ I3, CPU @3733 MHz, (<http://www.dockingserver.com>).

Bahan

Struktur 3D senyawa aktif ligan yang dari PubChem menurut penelitian yang sudah pernah dilakukan dan dr. duke^{7,10}. Kontrol obat D-Galactosa (CID: 439404) dan Methyl-alpha-D-mannoside (CID: 101798) didapatkan pada PubChem. Sedangkan struktur 3D protein target FimH (kode: 6GU0 organisme: *Escherichia coli*) dan PapG (kode: 4Z3E organisme: *Escherichia coli*) didapatkan dari protein data bank.

Tabel 1. Senyawa Aktif Bunga Rosella

Senyawa aktif	CID
Quercetin-3-rutinoside	5280805
Leucoside(kaempferol-3-O-sambubioside)	44258801
Kaempferol-3-glucoside	5282102
Quercetin-3-sambioside	5487635
Kaempferol-3-O-rutinoside (Nicotiflorin)	5318767
Quercetin-3-glucoside	5280804
Tiliroside	5320686
Cyclohexanecarboxylic acid, 4-((3,4-dihydroxyphenyl)-1-oxo-2opropenyl)oxy)-1,3,5-trihydroxy	139176169
Chlorogenic acid	1794427
Protocatechuic Acid-3-glucoside	72
5-Caffeoylquinic acid	5280633
4-Caffeoylquinic acid (Cryptochlorogenic acid)	58427569
Caffeoylquinic acid isomer (Isochlorogenic acid)	5315832
Feruloyl derivative (1-O-Feruloyl-beta-D-glucose)	13962928
5-O-Caffeoylshikimic acid	5281762
Feruloyl quinic acid derivative (4-O-Feruloyl-D-quinic acid)	10133609
Protocatechuic acid glucoside	91309592
Galloyl ester (Epicatechin-3-O-gallate)	131752218
Coumaroylquinic acid	90478782
Quercetin derivative	5284452
Quercetin	5280343
Myricetin	5281672
2-O-trans-Caffeoyl-hydroxycitric acid	9994897
Caffeic acid	689043
Gallic Acid	370

Keterangan: data di atas ada kode ligan senyawa aktif pada Pubchem yang digunakan pada penelitian ini.

Uji Penambatan Molekul Senyawa Aktif Bunga Rosella terhadap PapG dan FimH

Proses awal penambatan molekul adalah pengunduhan ligan senyawa aktif dan obat kontrol pada Pubchem, pengunduhan protein

target FimH dan PapG pada Protein Data Bank. Proses selanjutnya dilakukan preparasi protein menggunakan Biovia untuk menghilangkan molekul air, ligan yang tidak diperlukan ⁷. Setelah ligan dan protein yang sudah dipreparasi selanjutnya dilakukan proses *docking* menggunakan website dockingserver ⁷.

Teknik Analisis Data

Data yang didapatkan dianalisa secara diskriptif dengan menilai parameter ikatan energi bebas, luas permukaannya, konstanta inhibisi dan residu asam aminonya. Data yang diharapkan memiliki energi ikatan bebas lebih rendah dari kontrol, memiliki luas permukaan lebih besar dari kontrol, memiliki konstanta lebih kecil dibandingkan kontrol dan memiliki kesamaan residu asam amino yang sama dengan kontrol obat ⁷.

HASIL PENELITIAN

Hasil Data Penambatan Molekul

Hasil penambatan molekul terhadap protein FimH dan PapG dapat dilihat pada **Tabel 2** dan **Tabel 3**. Pada Protein FimH, Methyl alpha-D-mannopyranoside memiliki energi ikatan bebas dengan nilai -5,10 kkal/mol, Konstanta inhibisi 182,10 μ M, luas permukaan sebesar 435,852 Å dan molekul tersebut berikatan dengan ikatan hidrogen pada asam amino yang tertera pada **Gambar 1**.

Dari 27 senyawa aktif yang diujikan penambatan molekul pada FimH, didapatkan 21 senyawa aktif dari bunga rosella yang memiliki energi ikatan bebas lebih rendah dibandingkan kontrol dari . Tiga senyawa aktif terbaik adalah Quercetin-3-rutinoside (ΔG -9,61) kkal/mol), Leucoside (kaempferol-3-O-sambubioside) (ΔG -9,12 kkal/mol), Kaempferol-3-glucoside (ΔG -8,17 kkal/mol). Jumlah persamaan residu asam amino yang dilihat adalah 8 untuk Quercetin-3-rutinoside, 3 untuk Leucoside (kaempferol-3-O-sambubioside), 7 untuk Kaempferol-3-glucoside.

Pada Protein PapG, D-Galactose memiliki energi ikatan bebas sebesar -7,08 kkal/mol, Konstanta inhibisi sebesar 6,43 μ M, luas permukaan sebesar 343,949 Å dan molekul tersebut berikatan dengan ikatan hidrogen pada asam amino yang tertera pada **Gambar 2**.

Berdasarkan penambatan molekul pada FimH, didapatkan 10 senyawa aktif dari bunga

rosella yang energi ikatan bebasnya lebih rendah dari kontrol dari 27 senyawa aktif yang diujikan. Tiga senyawa aktif terbaik adalah Quercetin-3-rutinoside (ΔG -9,24 kkal/mol), Leucoside (kaempferol-3-O-sambubioside) (ΔG -9,09 kkal/mol), Kaempferol-3-O-

rutinoside (Nicotiflorin) (ΔG -8,66 kkal/mol). Jumlah persamaan residu asam amino yang dilihat adalah 3 untuk Quercetin-3-rutinoside, 3 untuk Leucoside (kaempferol-3-O-sambubioside), 3 untuk Kaempferol-3-glucoside.

Tabel 2. Data Hasil Energi Ikatan Bebas (ΔG), Konstanta Inhibisi, Luas Permukaan, Residu Asam Amino Senyawa Aktif Bunga Rosella terhadap FimH

No	Ligan	Energi Ikatan Bebas (kkal/mol)	Konstanta Inhibisi (μM)	Luas Permukaan ($\text{\AA}$)	Residu Asam Amino	Persamaan Residu Asam Amino
1	Methyl alpha-D-mannopyranoside	-5,10	182.10	435.852	PHE1, GLN133, ASP140, ASN46, ASP54, ASN138, ILE52, TYR137, PHE142, TYR48, ILE13	
2	Quercetin-3-rutinoside	-9,61	90.06	569.564	GLN133, ASN138, ASN135, ASP140, ILE13, TYR48, PHE142, TYR137, ILE52	8
3	Leucoside(kaempferol-3-O-sambubioside)	-9,12	207.28	479.876	THR51, TYR48, TYR137, GLU50, ILE52	3
4	Kaempferol-3-glucoside	-8,17	1.03	652.194	TYR48, THR51, GLN133, ASP140, ILE13, ILE52, PHE1, PHE142, ASN135	7
5	Quercetin-3-sambioside	-8,03	1.31	697.169	TYR48, TYR137, ASN135, GLN133, ASP54, ASP140, ILE13, ILE52, PHE1, PHE142, THR51	9
6	Kaempferol-3-O-rutinoside (Nicotiflorin)	-7,65	2.49	657.744	PHE1, TYR48, ASP140, ASP54, ASN46, ILE13, PHE142, TYR137, ASP47, ASN135	8
7	Quercetin-3-glucoside	-7,80	1.91	595.614	ARG98, TYR48, GLU50, THR51, PRO49, ILE52	2
8	Tiliroside	-7,14	5.80	652.38	TYR48, TYR137, ASP140, ASN135, GLN133, PHE142, ILE13	6
9	Cyclohexanecarboxylic acid, 4-((3,4-dihydroxyphenyl)-1-oxo-2opropenyl)oxy)-1,3,5-trihydroxy	-7,13	12.68	56.074	GLN133, TYR48, TYR137, THR51, ASN135, ASN46, ASP54, ILE52, PHE1, ASP140	8
10	Chlorgenic acid	-6,87	9.22	624.605	PHE1, ASN138, TYR137, THR51, ASN135, ASN46, ASP54, ASP140, TYR48, ILE52, PHE142, ASP47, ILE13	10
11	Protocatechuic Acid-3-glucoside	-6,68	12.68	560.074	PHE1, TYR137, ASP140, ASN46, GLN133, THR51, ASP54, TYR48, ILE52, PHE142, ILE13	10
12	5-Caffeoylquinic acid	-6,66	13.02	557.072	TYR137, ARG98, GLU50, THR51, PRO49,	2

TYR48						
13	4-Caffeoylquinic acid (Cryptochlorogenic acid)	-6,57	15.34	570.874	ASN135, GLN133, TYR48, TYR137, THR51, ASN46,ASP54, ILE52, ASP140	7
14	Caffeoylquinic acid isomer (Isochlorogenic acid)	-6,49	17.38	583.004	PHE1, ASP140, ASN138, ASN135, ASN46, ASP54, GLN133, TYR48, ILE52, TYR137, ASP47, THR51	9
15	Feruloyl derivative (1-O- Feruloyl-beta-D-glucose)	-6,38	21.04	620.455	PHE1, THR51, GLN133 TYR137, ASN138, ASN140, ASN46, ASN54 PHE142, TYR48, ILE52, ILE13	9
16	5-O-Caffeoylshikimic acid	-6,07	35.36	574.275	PHE1, TYR137, GLN133, ASP54, ASN46, TYR48, ILE13, ILE52, PHE142, ASP140	10
17	Feruloyl quinic acid derivative (4-O-Fruloyl- D-quinic acid)	-5,89	48.25	648.026	ASN138, PHE1, THR51, ASN135, GLN133, ASP140, ASP54, TYR48, TYR137, ILE52, ILE13	9
18	Protocatechuic acid glucoside	-5,87	49.91	57.043	GLN133, THR51, TYR137, ASN135, ASN46, ASP140 ILE52, TYR48, PHE142 ILE13, ASP54	9
19	Galloyl ester (Epicatechin-3-O-gallate)	-5,46	100.19	588.105	TYR48, ASN138, GLN133, ASP140, TYR48, ILE52, ILE13, PHE142, PHE1, ASN135	9
20	Coumaroylquinic acid	-5,32	125.43	531.923	PHE1, THR51, TYR137, GLN133, ASP54, TYR48 , ILE52, ASN138, ASN135, ASP140	8
21	Quercetin derivative	-5,27	135.96	52.459	GLN133, TYR137, ASP54, ASN46, TYR48, ILE52, PHE1, ASP140	8
22	Quercetin	-5,14	171.45	516.735	ASN135, GLN133, ASN46, ASP54, TYR48, ILE52, ASP140	6
23	Myricetin	-5,08	190.15	524.305	GLN133, ASN46, ASP54, ASP140, PHE1, PHE142 TYR48, ILE52	8
24	2-O-trans-Caffeoyl- hydroxicitric acid	-4,57	446.45	572.555	THR51, GLN133 TYR137, ASN46, ASP54 ILE52 , TYR48, PHE1 ASP140	10
25	Caffeic acid	-4,26	748.72	437.627	PHE1, GLN133, ASN46, ASP54 , TYR48, ILE52 ASN135, ASP140	7
26	Gallic Acid	-3,92	1.35	395.661	ASP47, PHE1, ASP54, ASN46, ASP104, TYR48, ILE52, PHE142	6
27	Methyl gallate	-3,62	2.22	424.216	PHE1, GLN133, ASP54, ASP140 , ILE13, TYR48, ILE52, ASN46	8

Keterangan: Data hasil penambatan molekul senyawa aktif- terhadap FimH. Penelitian menggunakan pendekatan obat pembanding, sehingga residu asam amino senyawa aktif (teks bold) dianggap sebagai sisi aktif dari protein target sama seperti residu asam amino kontrol dan refrens.

Tabel 3. Hasil Energi Ikatan Bebas (ΔG), Konstanta Inhibisi, Luas Permukaan, Residu Asam Amino Senyawa Aktif Bunga Rosella terhadap PapG

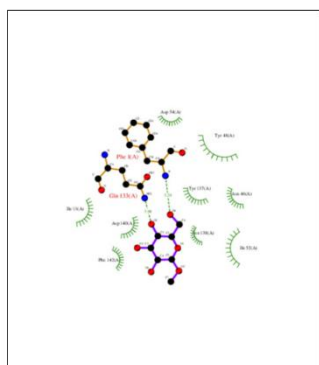
No	Ligan	Energi Ikatan Bebas (kkal/mol)	Konstanta Inhibisi (μM)	Luas Permukaan ($\text{\AA}$)	Residu Asam Amino	Persamaan Residu Asam Amino
1	D-Galactose	-7.08	6.43	343,949	ARG170, GLU59, ILE61, TRP107	
2	Quercetin-3-rutinoside	-9.24	169.82	530,316	TRP107, ARG170, GLU59	3
3	Kaempferol-3-O-rutinoside (Nicotiflorin)	-9.09	217.58	558,353	TRP107, ARG170, GLU59, SER89, GLU91, LYS172	3
4	Leucoside(kaempferol-3-O-sambubioside)	-8.66	451.22	436,817	TRP107, ARG170, GLU59, ASP108	3
5	Quercetin-3-sambioside	-8.01	1.34	374,887	TRP107, GLU59, ARG170, ILE61	4
6	Kaempferol-3-glucoside	-7.97	1.44	575,462	ARG170, SER89, GLU91, GLU59, LYS172	2
7	Protocatechuic Acid -3-glucoside	-7.44	3.53	556,436	LYS103, ARG170, GLU59, GLU91, TRP107, ILE61, SER89	4
8	Chlorogenic acid	-7.33	4.24	558,975	LYS103, ARG170, GLU59, TRP107, ILE61, SER87	4
9	Caffeoylquinic acid isomer (Isochlorogenic acid)	-7.29	4.55	420,553	LYS103, LYS103, ARG170, GLU59, GLU91, ILE61, TRP107, LEU102, SER89, SER87	4
10	Quercetin-3-glucoside	-7.21	5.16	420,553	TRP107, ARG170, GLU59, ILE61	4
11	Protocatechuic acid glucoside	-7.15	5.71	547,706	LYS103, ARG170, GLU91, GLU59, TRP107, ILE61, SER89	4
12	4-Caffeoylquinic acid (Cryptochlorogenic acid)	-7.07	6.59	503,111	TRP107, LYS103, LYS106, TYR105, GLN109	1
13	Quercetin	-7.01	7.26	45,117	TRP107, GLN109, ASP108, LEU167, LYS106	1
14	Tiliroside	-6.88	9.13	705,785	TRP107, ARG170, LYS172, LYS103, GLU59, ASP108, GLU91, ILE61	4
15	Myricetin	-6.84	9.65	455,145	GLN109, LYS106, ASP108, LEU167, TRP107	1
16	Quercetin derivative	-6.78	10.54	445,822	TRP107, ASP108, LEU167, LYS106	1
17	5-Caffeoylquinic acid	-6.57	10.68	58,486	LYS172, LYS103, GLU59, GLU9, SER87, ILE61, SER89	4
18	Feruloyl quinic acid derivative (4-O-Fruloyl-D-quinic acid)	-6.77	10.88	623,122	ARG170, GLU59, TRP107, LYS172	3
19	Cyclohexanecarboxylic acid, 4-((3,4-dihydroxyphenyl)-1-oxo-2opropenyl oxy)-1,3,5-trihydroxy	-6.67	12.85	558,452	LYS103, ARG170, GLU59, TRP107, SER89, SER87	3
20	Coumaroylquinic acid	-6.63	13.82	592,917	LYS103, ARG170, LYS172, GLU59, GLU91,	4

					ILE61, TRP107, SER89, LEU102, SER87	
21	Galloyl ester (Epicatechin-3-O-gallate)	-6.61	14.40	543,229	ARG170, GLU59, GLU91, TRP107, LYS172	3
22	2-O-trans-Caffeoyl-hydroxicitric acid	-6.52	16.65	581,803	ARG170, TRP107, LYS172, ILE61, GLU59	4
23	5-O-Caffeoylshikimic acid	-6.52	16.52	560,068	LYS103, ARG170, GLU59, GLU91, ILE61, TRP107, SER89, LEU102, SER87	4
24	Feruloyl derivative (1-O-Feruloyl-beta-D-glucose)	-5.38	114.26	485,573	ARG170, GLU59, TRP107, LYS172	3
25	Caffeic acid	-4.90	254.57	349,266	LYS106, RP107, GLN109	0
26	Gallic Acid	-4.63	403.38	308,421	GLN109, LYS106, TRP107	1
27	Methyl gallate	-4.33	669.60	410,292	ALYS172, SER89, GLU91, GLU59, ILE61, TRP107, LLEU102	3

Keterangan: Data hasil penambatan molekul senyawa aktif terhadap PapG. Penelitian menggunakan pendekatan obat pembeding, sehingga residu asam amino senyawa aktif (teks bold) dianggap sebagai sisi aktif dari protein target sama seperti residu asam amino kontrol dan refrensi.

Rank	Est. Free Energy of Binding	Est. Inhibition Constant, Ki	vdW + Hbond + desolv Energy	Electrostatic Energy	Total Intermolec. Energy	Frequency	Interact. Surface	Download
1.	-5.10 kcal/mol	182.10 uM	-4.28 kcal/mol	-0.41 kcal/mol	-4.66 kcal/mol	55%	435.852	download

2D plot

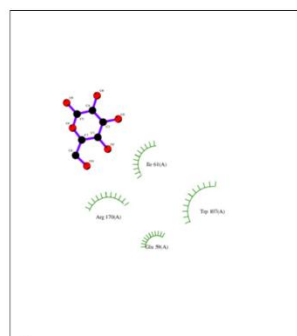


hydrogen bonds	polar	cation-pi	hydrophobic	other
PHE1 (-0.7991)	ASP140 (-0.3561)	PHE142 (-0.2971)	ILE52 (-0.7995)	TYR48 (-1.0181)
GLN133 (-0.2846)	ASN46 (-0.3265)		TYR137 (-0.4207)	ILE13 (-0.5055)
	ASP54 (-0.2879)			
	ASN138 (-0.2072)			

Gambar 1. Hasil penambatan Methyl alpha-D-mannopyranoside dengan protein FimH

Rank	Est. Free Energy of Binding	Est. Inhibition Constant, Ki	vdW + Hbond + desolv Energy	Electrostatic Energy	Total Intermolec. Energy	Frequency	Interact. Surface	Download
1.	-7.08 kcal/mol	6.43 uM	-3.78 kcal/mol	-0.38 kcal/mol	-4.13 kcal/mol	95%	343.949	download

2D plot

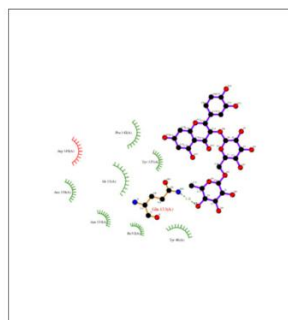


polar	cation-pi	hydrophobic
ARG170 (-0.7865)	TRP107 (-1.0576)	ILE61 (-0.6931)
GLU59 (-0.2846)		

Gambar 2. Hasil penambatan alpha-D-Galactose dengan protein PapG

Results Table							
Rank	Est. Free Energy of Binding	Est. Inhibition Constant, Ki	vdW + Hbond + desolv Energy	Electrostatic Energy	Total Intermolec. Energy	Frequency	Interact. Surface
1.	-9.61 kcal/mol	90.06 nM	-4.60 kcal/mol	-0.17 kcal/mol	-4.76 kcal/mol	1%	569.564

2D plot

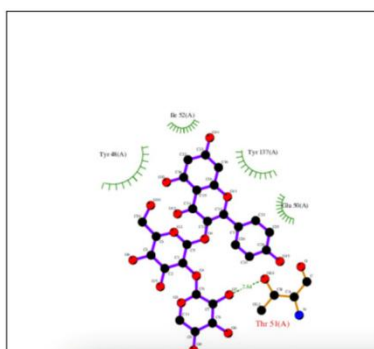


Decomposed Interaction Energies in kcal/mol				
hydrogen bonds	polar	cation-pi	hydrophobic	other
GLN133 (-0.3423)	ASN138 (-0.8133)	PHE142 (-1.3842)	ILE13 (-1.8308)	ILE52 (-0.4776)
	ASN135 (-0.6257)	TYR137 (-0.7247)	TYR48 (-1.2196)	
	ASP140 (1.3327)			

Gambar 3. Hasil penambatan Quercetin-3-rutinoside dengan protein FimH

Results Table								
Rank	Est. Free Energy of Binding	Est. Inhibition Constant, Ki	vdW + Hbond + desolv Energy	Electrostatic Energy	Total Intermolec. Energy	Frequency	Interact. Surface	Download
1.	-9.12 kcal/mol	207.28 nM	-4.57 kcal/mol	-0.05 kcal/mol	-4.63 kcal/mol	5%	479.876	download

2D plot

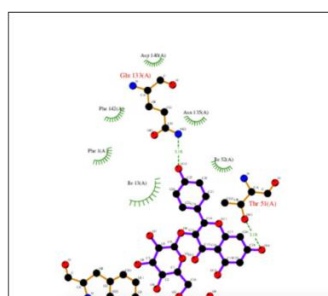


Decomposed Interaction Energies in kcal/mol		
hydrogen bonds	polar	other
THR51 (-0.896)	TYR48 (-2.496)	ILE52 (-0.621)
	TYR137 (-1.5115)	
	GLU50 (-0.6597)	

Gambar 4. Hasil penambatan Leucoside (kaempferol-3-O-sambubioside) dengan protein FimH

Results Table							
Rank	Est. Free Energy of Binding	Est. Inhibition Constant, Ki	vdW + Hbond + desolv Energy	Electrostatic Energy	Total Intermolec. Energy	Frequency	Interact. Surface
1.	-8.17 kcal/mol	1.03 uM	-4.54 kcal/mol	-0.21 kcal/mol	-4.74 kcal/mol	10%	652.194

2D plot

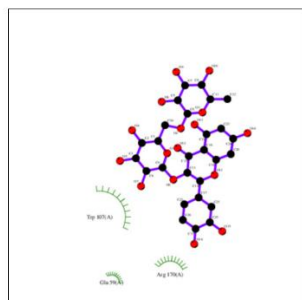


Decomposed Interaction Energies in kcal/mol				
hydrogen bonds	polar	cation-pi	hydrophobic	other
TYR48 (-2.4387)	ASP140 (-0.2816)	PHE1 (-0.5359)	ILE13 (-1.6225)	ASN135 (-0.4139)
THR51 (-0.2396)		PHE142 (-0.4583)	ILE52 (-0.3873)	
GLN133 (-0.2379)				

Gambar 5. Hasil penambatan Kaempferol-3-glucoside dengan protein FimH

Results Table								
Rank	Est. Free Energy of Binding	Est. Inhibition Constant, Ki	vdW + Hbond + desolv Energy	Electrostatic Energy	Total Intermolec. Energy	Frequency	Interact. Surface	Download
1.	-9.24 kcal/mol	169.82 nM	-4.44 kcal/mol	-0.18 kcal/mol	-4.61 kcal/mol	5%	530.316	download

2D plot

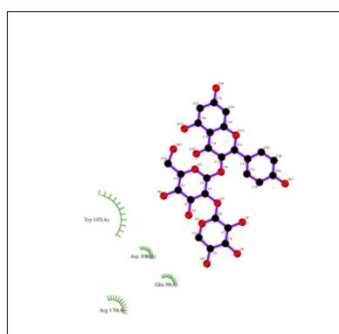


Decomposed Interaction Energies in kcal/mol	
polar	
TRP107	(-4.5777)
ARG170	(-1.9863)
GLU59	(-0.2919)

Gambar 6. Hasil penambatan Quercetin-3-rutinoside dengan protein PapG

Results Table								
Rank	Est. Free Energy of Binding	Est. Inhibition Constant, Ki	vdW + Hbond + desolv Energy	Electrostatic Energy	Total Intermolec. Energy	Frequency	Interact. Surface	Download
1.	-8.66 kcal/mol	451.22 nM	-3.78 kcal/mol	-0.15 kcal/mol	-3.93 kcal/mol	5%	436.817	download

2D plot

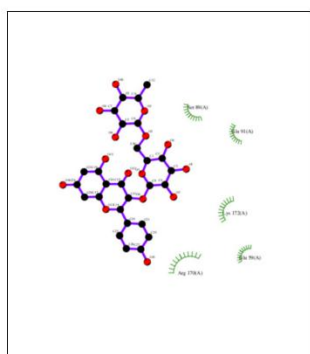


Decomposed Interaction Energies in kcal/mol	
polar	
TRP107	(-3.5116)
ARG170	(-0.8483)
GLU59	(-0.2112)
ASP108	(-0.2019)

Gambar 7. Hasil penambatan Leucoside (kaempferol-3-O-sambubioside) dengan protein PapG

Results Table								
Rank	Est. Free Energy of Binding	Est. Inhibition Constant, Ki	vdW + Hbond + desolv Energy	Electrostatic Energy	Total Intermolec. Energy	Frequency	Interact. Surface	Download
1.	-7.97 kcal/mol	1.44 uM	-4.12 kcal/mol	-0.54 kcal/mol	-4.66 kcal/mol	5%	575.462	download

2D plot



Decomposed Interaction Energies in kcal/mol	
polar	other
ARG170 (-1.1101)	LYS172 (-0.5935)
SER89 (-0.4135)	
GLU91 (-0.3308)	
GLU59 (-0.3109)	

Gambar 8. Hasil penambatan Kaempferol -3-O-rutinoside (Nicotiflorin) dengan protein PapG

PEMBAHASAN

Penambatan Molekul Senyawa Aktif Bunga Rosella terhadap FimH

Pada Protein FimH, Methyl alpha-D-mannopyranoside diketahui berikatan dengan protein tersebut. Nilai energi bebas yang dihasilkan tidak jauh berbeda dengan literatur

yaitu -6,00 kkal/mol (refrensi) ¹³. Data reidu asam amino yang dihasilkan pada penelitian ini sama dengan penelitian sebelumnya antara lain ILE52, TYR137, PHE142, TYR48 (refrensi) ^{13,11}. Kontrol berfungsi sebagai patokan hasil penambatan pada senyawa aktif yang diteliti dengan harapan jika memiliki energi ikatan bebas yang lebih rendah dibandingkan kontrol akan memberikan ikatan yang lebih kuat dan stabil, selain itu kemiripan residu asam amino dapat memprediksi mekanisme senyawa aktif dalam menghambat protein target ¹². Methyl alpha-D-mannopyranoside adalah suatu antagonis FimH yang sedang dikembangkan sebagai anti-adhesi untuk terapi infeksi *E. coli* ¹.

Pada penelitian ini menggunakan senyawa aktif bunga rosella golongan flavonoid yang di *dockingkan* dengan protein FimH diperoleh 3 senyawa terbaik diantaranya Quercetin-3-rutinoside, Leucoside (kaempferol-3-O-sambubioside), Kaempferol-3-O-glucoside. Hasil *docking* menunjukkan 3 senyawa tersebut memiliki ikatan bebas lebih rendah dibandingkan kontrol, yang menandakan ikatan antara senyawa dan protein target kuat, senyawa aktif melepaskan sejumlah energinya untuk mengikat protein sehingga ikatannya stabil. Selain ketiga senyawa aktif memiliki kemiripan residu asam amino dengan kontrol yang menandakan penempelan senyawa tepat pada sisi aktif protein yang diprediksi memiliki efektivitas yang sama dengan kontrol. Hasil didukung dengan parameter konstanta inhibisi, pada hasil penelitian menunjukkan 3 senyawa memiliki konstanta inhibisi lebih rendah dari kontrol, yang menunjukkan senyawa aktif memerlukan konsentrasi yang lebih rendah untuk menghambat aktivitas dari protein target. Untuk luas interaksi 3 senyawa memiliki luas permukaan yang lebih luas dibandingkan kontrol, yang menandakan luas permukaan ligan yang luas memudahkan ligan untuk berikatan dengan protein target dibandingkan dengan yang sempit ¹¹.

Dari hasil yang disebutkan 3 senyawa aktif bunga rosella memiliki afinitas tinggi dalam berikatan dengan protein FimH. Ketiga senyawa aktif tersebut tergolong dalam derivat quercetin dan kaempferol. Derivat quercetin dan kaempferol pada penelitian sebelumnya juga menjadi senyawa terbaik secara *in silico* dengan protein yang berbeda. Hasil residu asam amino dengan kemiripan diatas 7. Hasil energi ikatan bebas lebih rendah dibandingkan

kontrol, luas permukaan yang lebih besar dibandingkan dengan kontrol dan konstanta inhibisi yang lebih rendah dibandingkan kontrol. Hasil tersebut menandakan adanya potensi 3 senyawa aktif bunga rosella sebagai calon obat herbal anti-adhesi. Namun, perlu adanya peneltian lanjutan untuk mengkonfirmasi hasil di penelitian *in vitro* dan *in vivo*.

Penambatan Molekul Senyawa Aktif Bunga rosella terhadap PapG

Penambatan molekul G-Galactose pada protein PapG dapat berikatan. Hal tersebut mendukung beberapa literatur yang menyebutkan P fimbrie merupakan bagian bakteri yang memiliki fungsi adhesi pada sel epitel inang. P fimbrie terdiri dari batang proksimal dan ujung distal, dimana bagian tersebut mengandung karbohidrat perlekatan papG. Hal tersebut PapG memiliki afinitas tinggi terhadap D-Galactose, maka dari itu pada penelitian ini menggunakan G-Galactose sebagai kontrol ¹⁶.

Pada penelitian ini menggunakan senyawa aktif bunga rosella golongan flavonoid yang di *dockingkan* dengan protein PapG diperoleh 3 senyawa terbaik diantaranya Quercetin-3-rutinoside, Leucoside(kaempferol-3-O-sambubioside), Kaempferol-3-O-rutinoside (Nicotiflorin). Hasil *docking* menunjukkan 3 senyawa tersebut memiliki ikatan bebas lebih rendah dibandingkan kontrol, yang menandakan senyawa melepas energinya sejumlah lebih besar sehingga ikatan antara senyawa aktif dan protein lebih kuat dan stabil. Pada parameter konstanta inhibisi, hasil penelitian menunjukkan 3 senyawa memiliki konstanta inhibisi lebih kecil dibandingkan kontrol, yang menunjukkan senyawa aktif memerlukan konsentrasi yang lebih rendah untuk menghambat aktivitas dari protein target. Untuk luas permukaan 3 senyawa memiliki luas permukaan yang lebih luas dibandingkan kontrol, yang menandakan luas permukaan ligan yang luas memudahkan ligan untuk berikatan dengan protein target dibandingkan dengan yang sempit memiliki residu asam amino paling mirip dengan kontrol, yang menandakan penempelan senyawa tepat pada sisi aktif protein dan efektivitas yang sama dengan kontrol ¹⁰. Dapat disimpulkan ketiga senyawa memiliki afinitas tinggi untuk berikatan pada protein PapG tertama senyawa

yang tergolong derivat quercetin dan kaempferol.

KESIMPULAN

1. Senyawa aktif bunga rosella antara derivat Quercetin-3-rutinoside, dan derivat Kaempferol-3-glucoside memiliki afinitas tinggi pada protein FimH. Memiliki potensi sebagai calon obat anti-adhesi pada bakteri *E. coli*.
2. Senyawa aktif bunga rosella antaranya derivat Quercetin-3-rutinoside, Leucoside dan derivat kaempferol memiliki afinitas tinggi pada protein PapG. Memiliki potensi sebagai calon obat anti-adhesi pada bakteri *E. coli*.

SARAN

1. Perlu dilakukan pengujian anti-adhesi lanjutan senyawa aktif Quercetin-3-rutinoside, Kaempferol-3-glucoside, Leucoside (kaempferol-3-O-sambubioside), Kaempferol-3-O-rutinoside (Nicotiflorin) secara *in vitro* dan *in vivo*.
2. Tujuan penelitian adalah untuk sebagai adjuvant terapi, maka senyawa aktif Quercetin-3-rutinoside, Kaempferol-3-glucoside, Leucoside (kaempferol-3-O-sambubioside), Kaempferol-3-O-rutinoside (Nicotiflorin) perlu diuji kombinasinya dengan antibiotik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan kepada IOM, Dr. H. Yudi Purnomo, M.Kes, Apt. selaku penguji serta Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang, dan tim kelompok penelitian yang telah membantu penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Sarshar M, Behzadi P, Ambrosi C, Zagaglia C, Palamara AT, Scribano D. FimH and anti-adhesive therapeutics: A disarming strategy against uropathogens. *Antibiotics*. 2020;9(7):1–16.
2. Seputra KP. Tata Laksana Infeksi Saluran Kemih dan Genitalia Pria 2020. 2020. 148 p.
3. Mandracchia VJ, Hayes DW, Yoho RM, Hayes MF. Diagnosis, Differential and Treatment Options. *Nat Rev Microbiol* [Internet]. 2016;13(March):34. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4457377/pdf/nihms691311.pdf>
4. Escherichia U, Upec C, Zheng Y, Jiang Y, Sun L. Dictamnine Inhibits the Adhesion to and Invasion of resistance is increasing worldwide. Routine use of microbial strains that can persist for up to six month antibiotic-based treatments is of paramount importance to skin cells Cortex through t. 2022;1–10.
5. Sauer EL, Sperry JH, Rohr JR. An efficient and inexpensive method for measuring long-term thermoregulatory behavior. *J Therm Biol* [Internet]. 2016;60:231–6.
6. Peng Zhao, Su X, Ge T, Fan J. Urinary tract infections: microbial pathogenesis, host-pathogen interactions and new treatment strategies. *Physiol Behav*. 2016;176(1):139–48.
7. Islami AB, Yahya A, Hakim R, In Silico: Potensi Antiadhesi Senyawa Flavonoid Kelopak Bunga Rosella (Hibiscus sabdariffa) dalam Berikatan dengan Protein Adhesin GbpA Vibrio cholerae In Silico Study: Antiadhesion Potential of Flavonoid Active Compound Rosella Calyx (Hibiscus. 2021;1–8.
8. Ramadhan RM, Rusdi B, Herawati D. Penelusuran Pustaka Senyawa Aktif Antimikroba Dalam Bunga Rosella (Hibiscus Sabdariffa L). 2021;
9. Panche AN, Diwan AD, Chandra SR. Flavonoids: An overview. *J Nutr Sci*. 2016;5.
10. DukeD. Dr. Duke's Phytochemical and Ethnobotanical Databases Chemicals found in Hibiscus sabdariffa. 2000;1–4.
11. Eberhardt J, Santos-Martins D, Tillack AF, Forli S. AutoDock Vina 1.2.0: New Docking Methods, Expanded Force Field, and Python Bindings. *J Chem Inf Model*. 2021;61(8):3891–8.
12. Ribić R, Meštrović T, Neuberg M, Kozina G. Proposed dual antagonist approach for the prevention

- and treatment of urinary tract infections caused by uropathogenic *Escherichia coli*. *Med Hypotheses*. 2019;124(January):17–20.
13. Wellens A, Garofalo C, Nguyen H, Van Gerven N, Slättegård R, Hernalsteens JP, et al. Intervening with urinary tract infectious using anti adhesives based on the crystal structure of the FimH-oligomannose-3 complex. *PLoS One*. 2008;3(4).
 14. Alwie rahayu deny danar dan alvi furwanti, Prasetyo AB, A. Studi In Silico: Potensi Antiadhesi Senyawa Flavonoid Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) dalam Berikatan dengan Protein Adhesin GbpA *Vibrio cholerae*. *J Ekon* Vol 18, Nomor 1 Maret 201. 2020;2(1):41–9.
 15. Blanco J, Blanco M, Alonso MP, Blanco JE, Garabal J, González EA. Serogroups of *Escherichia coli* strains producing cytotoxic necrotizing factors CNF1 and CNF2. *FEMS Microbiol Lett*. 1992;96(2–3):155–9.
 16. Ohlsson J, Uhlin BE, Kihlberg J, Nilsson UJ. Discovery of potent inhibitors of PapG adhesins from uropathogenic *Escherichia coli* through synthesis and evaluation of galabiose derivatives. *ChemBioChem*. 2002;3(8):772–9.