

**POTENSI ANTI-ADHESI SENYAWA AKTIF BUNGA *Hibiscus sabdariffa*
PADA PENGHAMBATAN PROTEIN *Blood Antigen Binding Adhesin* (BabA) DAN
Sialic Acid Binding Adhesin (SabA) *Helicobacter pylori* MELALUI STUDI IN SILICO**

Muhammad Hidayatul Rohman, Yoni Rina Bintari, Rio Risandiansyah *

Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan: *Helicobacter pylori* merupakan bakteri gram-negatif pada pencernaan manusia. Kolonisasi *H. pylori* pada epitel lambung dapat dicegah dengan menghambat proses adhesi. Protein *Blood Antigen Binding Adhesin* (BabA) dan *Sialic Acid Binding Adhesin* (SabA) merupakan protein terpenting pada adhesi *H. pylori*. Senyawa aktif bunga *H. sabdariffa* telah diuji sebagai anti-adhesi, namun senyawa aktif yang berpotensi sebagai anti-adhesi melalui penghambatan BabA dan SabA belum diketahui sehingga perlu diteliti.

Metode: Prediksi potensi senyawa aktif bunga *H. sabdariffa* dilakukan secara komputasi dengan *Autodock Vina*. Sebanyak 20 senyawa aktif bunga *H. sabdariffa* diambil dari *PubChem*. Protein BabA (kode 4ZH7) dan protein SabA (kode 4O5J) diambil dari *Protein Data Bank*. Pemilihan senyawa terbaik dilihat melalui parameter nilai ΔG dan kesamaan residu kemudian dibandingkan dengan kontrol yakni Lewis-b tetrasaccharida dan SLeX (sialyl lewis-X). Prediksi fisikokimia serta parameter ADMET dievaluasi dengan *website pKCSM online tools*.

Hasil: Senyawa aktif bunga *H. sabdariffa* berpotensi sebagai anti-adhesi pada protein BabA adalah Quercetin-3-glucoside (ΔG -9,2 kkal/mol, 39%), Quercetin-3-sambioside (ΔG -9,1 kkal/mol, 39%), Kaempferol-3-O-rutinoside (ΔG -8,6 kkal/mol, 39%), dan Myricetin (ΔG -7,1 kkal/mol, 39%). Senyawa aktif bunga *H. sabdariffa* berpotensi sebagai anti-adhesi terhadap protein SabA adalah Tiliroside (ΔG -8,8 kkal/mol, 33%) dan Quercetin-3-sambioside (ΔG -8,5 kkal/mol, 67%). 18 senyawa aktif bunga *H. sabdariffa* memenuhi kriteria *Lipinski rule of five* dan prediksi ADMET memiliki profil yang baik.

Kesimpulan: Senyawa aktif bunga *H. sabdariffa* terutama Quercetin-3-glucoside dan Quercetin-3-sambioside berikatan dengan kuat terhadap protein BabA dan SabA sehingga berpotensi menghambat adhesi *H. pylori*.

Kata Kunci : BabA; SabA; *Hibiscus sabdariffa*; in silico.

*Korespondensi :

Rio Risandiansyah (riorisandiansyah@unisma.ac.id)

Alamat : Jl MT Haryono 193 Kota Malang, Jawa Timur Indonesia, 65145

**ANTI-ADHESION POTENTIAL OF *Hibiscus sabdariffa* FLOWER ACTIVE COMPOUNDS
BY INHIBITING *Blood Antigen Binding Adhesin* (BabA) AND *Sialic Acid Binding Adhesin*
(SabA) *Helicobacter pylori* PROTEIN THROUGH IN SILICO STUDY**

Muhammad Hidayatul Rohman, Yoni Rina Bintari, Rio Risandiansyah *

Faculty of Medicine University of Islam Malang

ABSTRACT

Introduction : *Helicobacter pylori* is a gram-negative bacterium in human digestion. Colonization of *H. pylori* on the gastric epithelium can be prevented by inhibiting the adhesion process. *Blood Antigen Binding Adhesin* (BabA) protein and *Sialic Acid Binding Adhesin* (SabA) is the most important protein in adhesion of *H. pylori*. Active compounds of *H. sabdariffa* flowers have been tested as anti-adhesion, but the active compounds that have potential as anti-adhesion through BabA and SabA inhibition are still unknown so it needs to be studied.

Method: Prediction of potential active compounds of *H. sabdariffa* flowers was done computationally with *Autodock Vina*. Total 20 compounds of *H. sabdariffa* flower were taken from *PubChem*. BabA protein with (code 4ZH7) and SabA protein (code 4O5J) were taken from "*Protein Data Bank*". Selection of the best compound was seen through the parameters of ΔG value and residue similarity and then compared with the controls, namely Lewis-b tetrasaccharide and SLeX (Sialyl lewis-X). Physicochemical prediction and ADMET parameters were evaluated with the *pKCSM online tools website*.

Results : The active compounds of *H. sabdariffa* flower that has the potential as anti-adhesion to BabA protein is Quercetin-3-glucoside (ΔG -9,2 kkal/mol, 39%), Quercetin-3-sambioside (ΔG -9,1 kkal/mol, 39%), Kaempferol-3-O-rutinoside (ΔG -8,6 kkal/mol, 39%), and Myricetin (ΔG -7,1 kkal/mol, 39%). Active compounds of *H. sabdariffa* flowers have the potential as anti-adhesion to SabA protein are Tiliroside (ΔG -8,8 kkal/mol, 33%) and Quercetin-3-sambioside (ΔG -8,5 kkal/mol, 67%). 18 compounds from *H. sabdariffa* flower met the *Lipinski rule of five* criteria and the ADMET prediction had a good profile.

Conclusion : The active compound of *H. sabdariffa* flower, especially Quercetin-3-glucoside and Quercetin-3-sambioside bind strongly to BabA and SabA protein, potentially inhibiting *H. pylori* adhesion.

Keywords : BabA; SabA; *Hibiscus sabdariffa*; in silico.

*Correspondence:

Rio Risandiansyah (riorisandiansyah@unisma.ac.id)

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

PENDAHULUAN

Helicobacter pylori merupakan jenis bakteri gram-negatif dan menyebabkan infeksi pada pencernaan manusia. Penularan infeksi dapat ditularkan secara oral-oral maupun fecal-oral¹. Infeksi ini menyebabkan berbagai macam penyakit, diantaranya yaitu gastritis yang merupakan satu dari sepuluh penyakit dengan jumlah pasien rawat inap terbanyak di Indonesia dengan total 30.154 kasus (4,9%)². Prevalensi penyakit gastritis mencakup 274,396 kasus dari total 238,452,952 masyarakat di Indonesia³.

Adhesi merupakan langkah awal dari *H. pylori* dalam menyebabkan infeksi. Dalam mekanisme adhesi, bakteri *H. pylori* dibantu oleh flagela yang membantu motilitas dari bakteri untuk menempel. Selain, proses ini juga dibantu oleh protein pengikat membran luar yang terdapat pada bakteri. *H. pylori* menempel pada epitel lambung melalui adhesin BabA (*Blood antigen binding adhesin*) dan SabA (*Sialic acid binding adhesin*) yang merupakan protein terpenting dalam proses adhesi *H. pylori*. Protein BabA (*Blood antigen binding adhesin*) memiliki kemampuan untuk mengikat erat pada bagian gula lewis-b pada permukaan sel epitel yang melapisi lambung terutama dimediasi oleh jaringan ikatan hidrogen, dimana ikatan hidrogen membantu mengikat protein BabA pada gula lewis-b dan setelah terikat protein BabA membantu bakteri *H. pylori* mempertahankan kontak dengan lapisan mukosa dan memfasilitasi adhesi dan kolonisasi bakteri pada permukaan lambung⁴. Sedangkan protein SabA (*Sialic acid binding adhesin*) memiliki kemampuan untuk mengikat asam sialat yang terdapat pada lapisan mukosa lambung⁵. Kedua protein ini membantu perlekatan di epitel lambung sehingga proses kolonisasi bisa berjalan dengan baik.

Sebagai upaya pencegahan infeksi *H. pylori*, obat jenis anti-adhesi bermanfaat menjadikannya alternatif terapi pada infeksi. Beberapa penelitian yang mencari agen anti-adhesi telah menemukan bahwa salah satu herbal yang diketahui menghambat adhesi adalah *Hibiscus sabdariffa*⁶. Ada banyak studi telah dilakukan terkait manfaatnya sebagai antibakteri, tetapi bagian yang paling banyak dikaji yaitu pada bunga yang mengandung senyawa aktif antibakteri dengan membentuk senyawa kompleks bersama dengan protein melalui terbentuknya ikatan seperti ikatan hidrogen⁶. Secara *in vitro* potensi senyawa aktif yang ditemukan pada ekstrak bunga *H. sabdariffa* telah terbukti berperan sebagai antibakteri⁷ dan secara *in silico* terdapat potensi anti-adhesi dari senyawa aktif yang diambil dari bunga *H. sabdariffa*⁸. Namun, mekanisme secara molekular masih belum diketahui serta efeknya sebagai anti-adhesi tidak diketahui pada protein target dari *H. pylori*, sehingga perlu diteliti perannya pada BabA dan SabA secara *in silico* untuk mengetahui senyawa aktif yang menunjukkan efek sebagai anti-adhesi.

METODE PENELITIAN

Desain & Waktu Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode komputasi *in silico* melalui *molecular docking* terhadap protein adhesi BabA dan SabA *Helicobacter pylori* dengan senyawa aktif bunga *H. sabdariffa*. Penelitian dilaksanakan di bulan Juni sampai Juli 2023 di Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang.

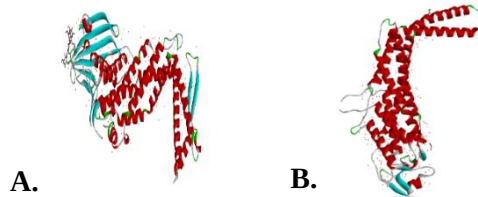
Alat & Bahan

Alat berupa laptop dengan sistem *procesor Intel® Core™i5*, RAM 4GB, CPU 2,60 GHz, Sistem operasi *Windows 10 Pro 64-bit*, *Software Autodock Vina*, *Website Protein Data Bank*, *Website Pubchem*, *Website Online SMILES kode Translator*, *Discovery Studio Visualizer* dan koneksi internet yang cukup digunakan untuk komputasi *docking*.

Struktur tiga dimensi protein diperoleh melalui *Protein Data Bank*. Struktur tiga dimensi senyawa aktif bunga *Hibiscus sabdariffa* diperoleh melalui website PubChem. Protein yang digunakan yaitu protein BabA dengan kode 4ZH7 dan protein SabA dengan kode 4O5J ditunjukkan pada **Gambar 1**.

Validasi Metode Molecular Docking

Pada saat melakukan tambatan molekul, dilakukan pengujian validasi sebelumnya antara protein dan kontrol dengan melihat RMSD. Hasil uji validasi yang didapatkan bertujuan untuk menentukan bahwa kontrol layak di pakai dalam penelitian⁹. Hasil validitas yang didapatkan antara protein BabA dengan Lewis-b tetrasaccharida memiliki nilai 1,7 Å, sedangkan validitas protein SabA dengan Slex memiliki nilai RMSD 1,9 Å.



Gambar 1. Gambar tiga dimensi protein BabA (A) protein SabA (B)

Uji Penambatan Molekul Antara Senyawa Aktif Bunga *H. sabdariffa* terhadap Protein BabA dan Protein SabA

Sebelum melakukan penambatan dilakukan proses penentuan protein dan ligan didasarkan pada studi literatur, kemudian protein diunduh melalui *Protein Data Bank* dan ligan senyawa aktif bunga *H. sabdariffa* yang telah dipilih berdasarkan penelitian sebelumnya, ditunjukkan pada **Gambar 3** diunduh melalui Pubchem untuk mendapatkan struktur tiga dimensi. Lalu proses selanjutnya menghilangkan molekul lain yang tidak diperlukan seperti molekul air dan ligan melalui *software Biovia Discovery Studio*. Selanjutnya dilakukan

preparasi protein menggunakan *Autodock Tools* dan disimpan dalam format *pdqt*. Langkah berikutnya dilakukan proses penambatan molekul melalui *software Autodock Vina*. Hasil penambatan akan ditampilkan dalam format *notepad*, kemudian didapatkan visualisasi hasil docking dengan menggunakan *Biovia Discovery Studio Visualizer*¹⁰. Untuk proses pada penambatan memperhatikan ukuran gridbox dengan rincian pada **tabel 1**.

Tabel 1. Ukuran Grid Box

	BabA	SabA
Center_X	-34.072	99.882
Center_Y	-20.28	-37.430
Center_Z	52.053	-5.298
Size_X	40	54
Size_Y	30	54
Size_Z	34	54

Keterangan: Grid saat penambatan menggunakan *AutodockTools*

Prediksi Sifat Fisikokimia dan Farmakokinetik Senyawa Aktif Bunga *Hibiscus sabdariffa*

Prediksi sifat fisikokimia diukur dengan hukum 5 Lipinski dan farmakokinetik diukur dengan absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi dan toksisitas (ADMET) yang diakses melalui *website pkCSM online tool* dengan menyalin kode SMILES yang terdapat pada Pubchem.

Teknik Analisis Data

Pada penelitian ini, hasil uji *in silico* yang diperoleh dianalisa untuk melihat afinitas ikatan antara ligan dan protein dengan menilai parameter uji energi bebas (ΔG), serta banyaknya kesamaan ikatan terhadap residu asam amino antara ligan dan

protein dibandingkan dengan kontrol. Kemudian hasil data yang didapatkan dianalisa secara deskriptif¹¹.

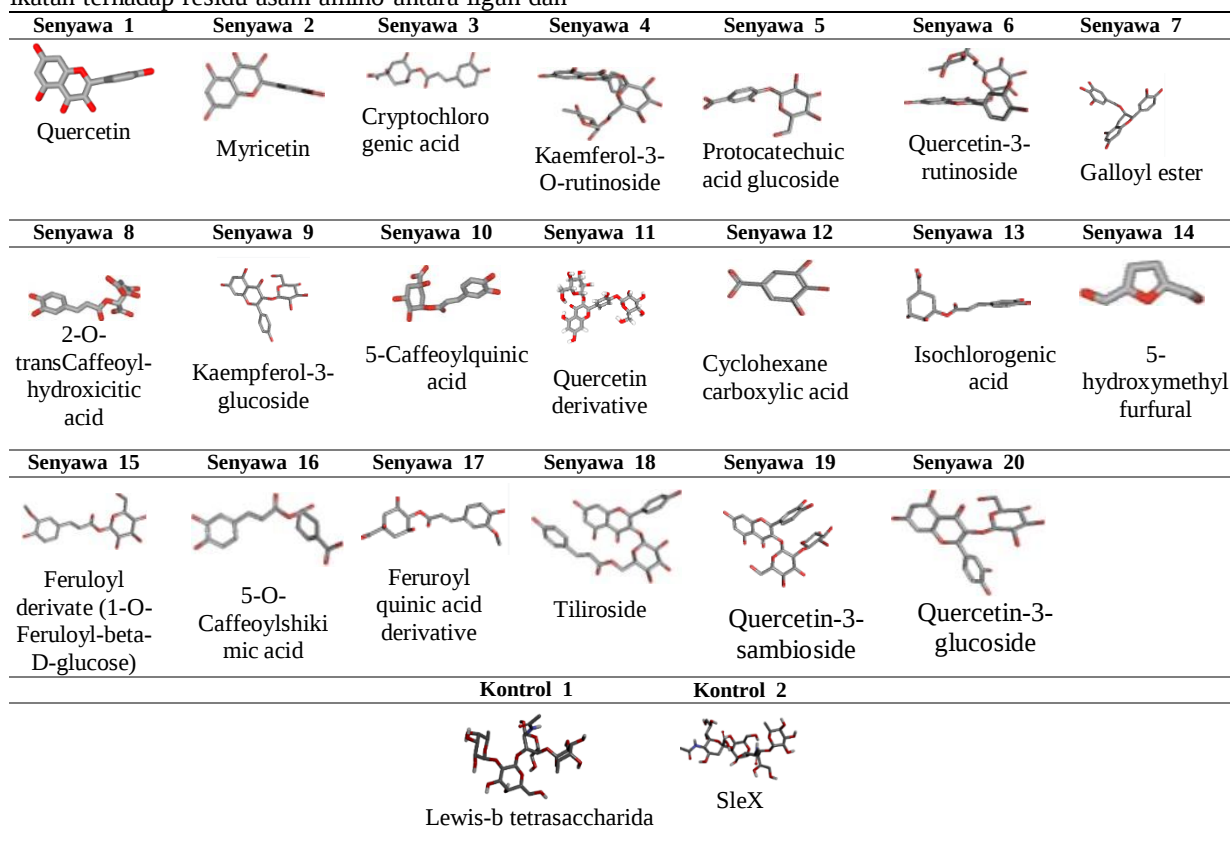
HASIL PENELITIAN

Hasil Data Penambatan Molekul

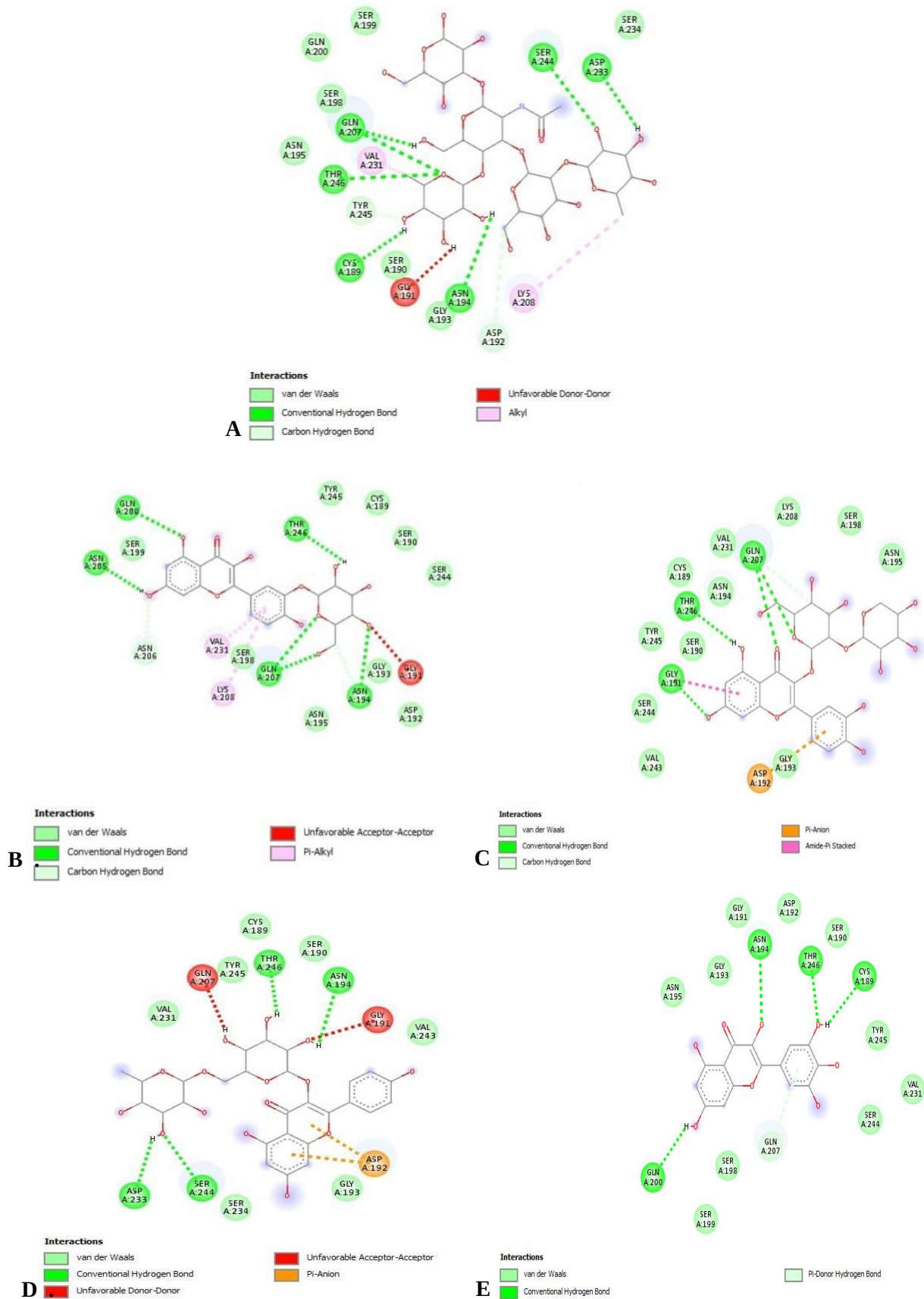
Hasil penambatan secara komputasional antara protein adhesin BabA dan SabA pada senyawa aktif flavonoid *Hibiscus sabdariffa* disajikan pada **Tabel 2** dan **Tabel 3**.

Protein adhesin BabA ditambatkan dengan menggunakan lewis-b tetrasaccharida sebagai kontrol untuk membandingkan efektivitas penambatan ligan senyawa aktif memiliki ΔG dengan nilai sebesar -6,3 kkal/mol serta memiliki 18 residu asam amino yang berinteraksi dengan protein, ditunjukkan melalui **Gambar 4**.

Dari 20 ligan senyawa aktif *Hibiscus sabdariffa* yang ditambatkan pada BabA, masing-masing ligan menunjukkan perbedaan nilai ΔG dan residu asam amino. Sebanyak empat senyawa aktif terbaik didapatkan yaitu Quercetin-3-glucoside (ΔG -9,2 kkal/mol), Quercetin-3-sambioside (ΔG -9,1 kkal/mol), Kaempferol-3-O-rutinoside (ΔG -8,6 kkal/mol), Myricetin (ΔG -7,1 kkal/mol) dengan masing-masing total 7 residu asam amino yang berinteraksi. Keempat senyawa terbaik dapat dilihat pada **Gambar 4** secara berurutan. Keempat senyawa Quercetin-3-glucoside, Quercetin-3-sambioside, Kaempferol-3-O-rutinoside dan senyawa Myricetin memiliki nilai ΔG yang lebih baik daripada kontrol dan memiliki kesamaan residu sama dengan kontrol sebesar 39% yang tinggi dibanding dengan senyawa yang lain.



Gambar 3. Struktur 3D kontrol dan senyawa aktif yang digunakan pada penelitian



Gambar 4. Interaksi Lewis-b tetrasaccharida (A); Interaksi Quercetin-3-glucoside (B); Interaksi Quercetin-3-sambioside (C); Interaksi Kampferol-3-O-rutinoside (D); Interaksi Myricetin (E); dengan BabA.

Keterangan : (--) Carbon Hydrogen Bond; (--) Conventional Hydrogen Bond; (●) Van der Waals; (--) Pi-Donor Hydrogen Bond; (--) Unfavorable Donor-Donor; (--) Unfavorable Acceptor-Acceptor; (--) Pi-Alkyl; (--) Alkyl.

Tabel 2. Hasil Analisis Energi Ikatan Bebas (ΔG) dan Residu Asam Amino Senyawa Aktif Bunga Rosela terhadap BabA

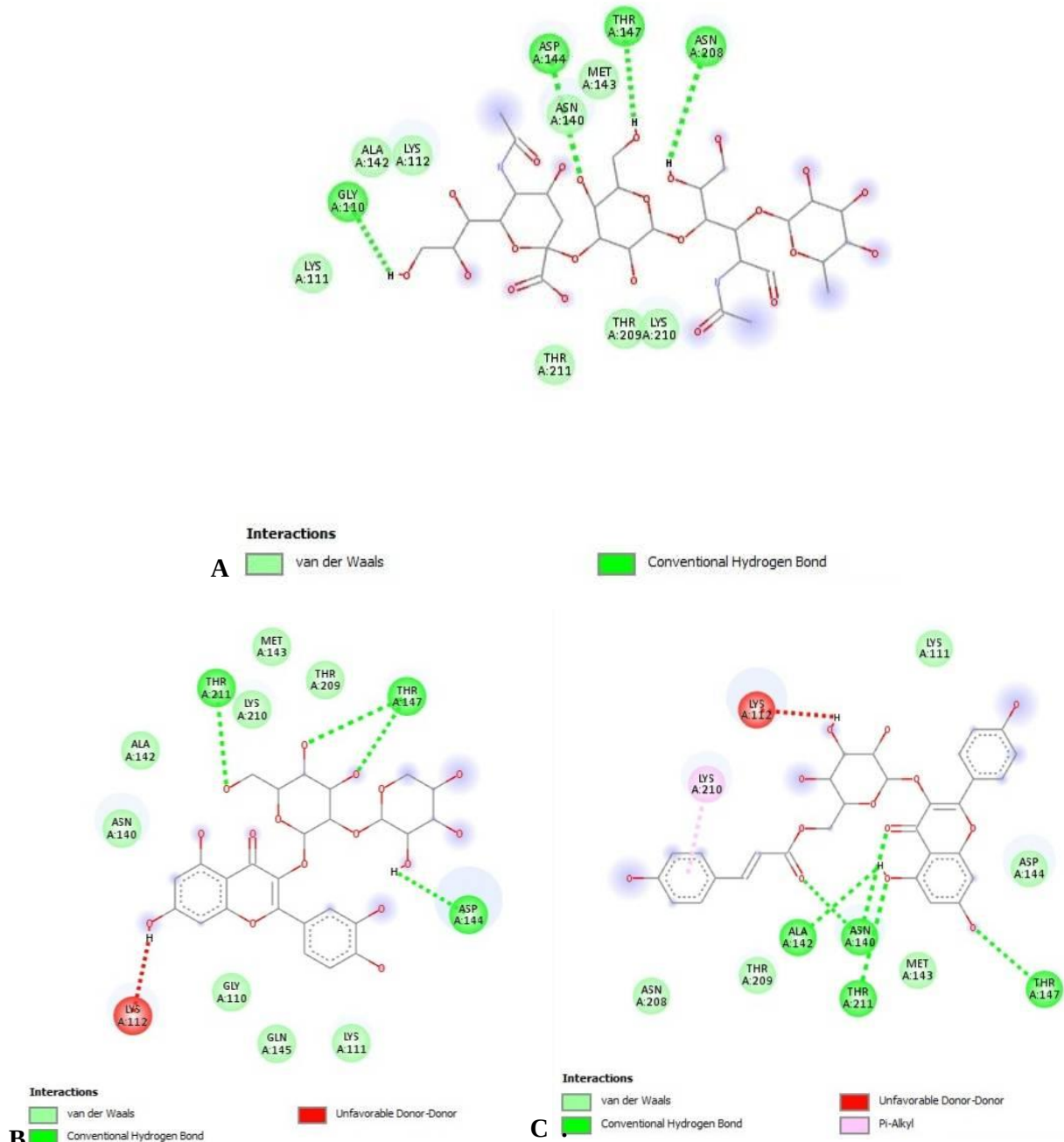
No	Ligan	Energi Ikatan Bebas (kkal/mol)	Residu Asam Amino	Jumlah Res. Asam Amino sama dengan kontrol	Persamaan Residu Asam Amino	Kesimpulan
1	Lewis-b tetrasaccharida (kontrol)	-6,3	Van der Waals : SER199, SER198, GLN200, ASN195, SER190, SER234, GLY193 ; Carbon Hydrogen Bond : TYR245, ASP192 ; Conventional Hydrogen Bond : GLN207, THR246, CYS189, ASN194 SER244, ASP233 ; Alkyl : LYS208, VAL231 ; Unfavorable Donor-Donor : GLY191	-	-	Energi ikatan kuat
2	Quercetin-3-glucoside	-9,2	Van der Waals : SER199, SER198, ASN195, GLY193 , ASP192, SER244, SER190 , CYS189, TYR245; Conventional Hydrogen Bond : GLN200, ASN205, THR246, GLN207 , ASN194; Carbon Hydrogen Bond : ASN206, ASN194; Pi-Alkyl : VAL231, LYS208; Unfavorable Aceptor-Aceptor : GLY191	7/18	39%	Energi ikatan kuat
3	Quercetin-3-sambioside	-9,1	Van der Waals : LYS208, ASN194, CYS189, SER190 , TYR245, SER234 , VAL243, GLY193, ASN195, SER198 ; Conventional Hydrogen Bond : THR246, GLN207 , GLY191; Carbon Hydrogen Bond : GLN207; Amide-Pi Stacked : GLY191; Pi-Anion : ASP192	7/18	39%	Energi ikatan kuat
4	Quercetin-3-rutinoside	-8,7	Van der Waals : CYS189, TYR245, VAL231, ASN194, SER190 , VAL243, GLY193, SER234 ; Conventional Hydrogen Bond : ASP233, SER244 ; Pi-Anion : ASP192; Carbon Hydrogen Bond: SER244 Unfavorable Aceptor : GLN207; Unfavorable Donor-Donor : GLY191	5/18	28%	Energi ikatan kuat
5	Kaempferol-3-O-rutinoside	-8,6	Van der Waals : CYS189, TYR245, VAL231, SER190 , VAL243, GLY193, SER234 ; Conventional Hydrogen Bond : ASP233, SER244, ASN194, THR246 ; Unfavorable Aceptor-Aceptor: GLY191; Unfavorable Donor-Donor : GLN207; Pi-Anion : ASP192	7/18	39%	Energi ikatan kuat
6	Galloyl ester	-8,4	Van der Waals : VAL243, GLY191, ASP192, SER190, GLY193 , ASN194, TYR245, ASP233, SER234 ; Conventional Hydrogen Bond : THR246, CYS189, SER244	6/18	33%	Energi ikatan kuat
7	Tiliroside	-8,2	Van der Waals : ASP192, SER198, ASN195, GLY193, SER190 , GLN207, CYS189, TYR245, THR246, SER244, VAL231; Conventional Hydrogen Bond: GLY191, ASN194 ; Pi-Cation: LYS208	5/18	28%	Energi ikatan kuat
8	5-Caffeoylquinic acid	-8,0	Van der Waals : ASP233, CYS189, SER190 , CYS197, VAL231, GLY193 , VAL243; Conventional Hydrogen Bond: SER234, ASP192 ASN194, THR246 ; Carbon Hydrogen Bond : GLY191; Unfavorable Donor-Donor : GLN207; Pi-Donor Hydrogen Bond : SER244	4/18	22%	Energi ikatan kuat
9	Kaempferol 3-glucoside	-8,0	Van der Waals : GLN200, SER198, ASN195, GLY193 , GLY191 ASP192, SER244, TYR245, VAL231; Carbon Hydrogen Bond : SER190, THR246; Conventional Hydrogen Bond : ASN194 ; Pi. Alkyl : LYS208; Unfavorable Aceptor : CYS189; Pi-Donor : THR246	5/18	28%	Energi ikatan kuat
10	Isochlorogenic acid	-7,5	Van der Waals : GLY242, SER234, SER244, GLY191, GLY193 SER190 , TYR245, THR246, GLN207, ASP192; Conventional Hydrogen Bond : ASN194, CYS189 ; Pi-Alkyl : VAL243	5/18	28%	Energi ikatan kuat
11	Cryptochlorogenic acid	-7,4	Van der Waals : VAL231, ASN195 , CYS197, TYR245, SER190 , ASP192; Conventional Hydrogen Bond: ASN194, GLN207, THR246 CYS189 ; Carbon Hydrogen Bond : SER244; Unfavorable Donor : GLY191; Pi-Anion : ASP 233; Pi-Donor Hydrogen Bond : SER234	6/18	33%	Energi ikatan kuat
12	2-O-transcaffeoyl-Hydroxycitric acid	-7,4	Van der Waals : GLY193 , ASP192, GLY191, SER244, TYR245, SER190 , ASN194, SER198, SER199 ; Conventional Hydrogen Bond : GLN200, GLN207, THR246, CYS189	6/18	33%	Energi ikatan kuat
13	Protocatechuic acid glucoside	-7,2	Van der Waals : LYS119, SER136, THR104, TYR102, TYR128, GLY127, SER130; Conventional Hydrogen Bond : GLN105, THR134, SER132; Pi-Donor Hydrogen Bond: THR134; Pi-Alkyl : ILE133	0/18	0%	Energi ikatan kuat
14	Myricetin	-7,1	Van der Waals: ASN195 , GLY191, SER190 , ASP192, TYR245, VAL231 GLY193, SER244, SER198 , SER199; Conventional Hydrogen Bond: ASN194, THR246, CYS189 , GLN200; Pi-Donor Hydrogen : GLN207	7/18	39%	Energi ikatan kuat
15	Cyclohexanecarboxylic acid	-7,1	Van der Waals : ILE121, THR241, THR188, GLU247, THR186, SER190 ; Conventional Hydrogen Bond : ASN123, TYR245, LYS119; Pi-Alkyl : VAL243	1/18	5.5%	Energi ikatan kuat
16	Quercetin derivative	-7,1	Van der Waals : VAL243, ASN123; Conventional Hydrogen Bond : SER190, GLU247, TYR245; Pi-Sigma : THR241; Pi-Alkyl : ILE121, LYS119 ; Pi-Pi T-shaped : TYR245	0/18	0%	Energi ikatan kuat
17	Quercetin	-7,1	Van der Waals : ASN123; Conventional Hydrogen Bond : TYR245, GLU247, SER190; Pi. Donor Hydrogen Bond : THR188, Pi. Sigma : THR241; Pi. Alkyl : ILE121, LYS119, VAL243; Pi-Pi T-shaped: TYR245	0/18	0%	Energi ikatan kuat
18	Feruloyl derivative	-7,0	Van der Waals : ASP192, GLY193 , ASN194, SER190, CYS189, TYR245, THR246, VAL231, ASN206; Conventional Hydrogen Bond: GLY191, SER244, GLN207 ; Carbon Hydrogen Bond : GLY191; Pi-Alkyl : LYS208	3/18	17%	Energi ikatan kuat
19	5-O-caffeoylshikimic acid	-6,9	Van der Waals : VAL243, THR241, ILE121, THR188, TYR245, Unfavorable Donor-Donor : ASN12; Pi-Alkyl : LYS119	0/18	0%	Energi ikatan kuat
20	Feruloyl quinic acid derivative	-6,8	Van der Waals : VAL231, GLN207, SER244, THR246, CYS189, TYR245, SER190 , GLY191, ASP233; Conventional Hydrogen Bond: ASN194, LYS208	2/18	11%	Energi ikatan kuat
21	5-hydroxymethylfurfural	-4,3	Van der Waals : SER132, SER130, GLY127, TYR102, TYR128, GLN105; Conventional Hydrogen Bond : THR134; Pi-Alkyl : ILE133	0/18	0%	Energi ikatan kuat

Keterangan : Data pada tabel yang ditampilkan di atas merupakan hasil dari penambatan dari 20 senyawa aktif *Hibiscus sabdariffa* dan kontrol Lewis-b tetrasaccharida dengan BabA.

Protein adhesin SabA ditambatkan dengan menggunakan SleX sebagai kontrol untuk membandingkan efektivitas penambatan ligan senyawa aktif memiliki ΔG dengan nilai sebesar -8,8 kkal/mol serta mempunyai 12 residu yang berinteraksi pada protein, ditunjukkan dengan **Gambar 5**.

Dari 20 ligan senyawa aktif *Hibiscus sabdariffa* yang ditambatkan pada SabA, masing masing ligan menunjukkan perbedaan nilai ΔG dan

residu asam amino. Sebanyak dua senyawa aktif terbaik didapat yaitu Tiliroside (ΔG -8,8 kkal/mol) dengan 4 residu yang berinteraksi dan Quercetin-3-sambubioside (ΔG -8,5 kkal/mol) dengan 8 residu yang berinteraksi. Kedua senyawa terbaik dapat dilihat pada **Gambar 5** secara berurutan. Selain itu senyawa Kaempferol-3-glucoside dan 5-caffeoylquinic acid memiliki nilai ΔG yang lebih tinggi dibanding kedua senyawa terbaik tetapi tidak memiliki kesamaan residu yang mirip kontrol.



Gambar 5. Interaksi SleX (A); Interaksi Quercetin-3-sambubioside (B); Interaksi Tiliroside (C); dengan SabA

Keterangan : (--) Carbon Hydrogen Bond; (--) Conventional Hydrogen Bond; (●) Van der Waals; (--) Donor Hydrogen Bond; (--) Unfavorable Donor-Donor; (--) Unfavorable Acceptor-Acceptor; (--) Pi-Alkyl; (--) Alkyl.

Tabel 3. Hasil Analisis Energi Ikatan Bebas (ΔG) dan Residu Asam Amino Senyawa Aktif Bunga Rosela terhadap SabA

No	Ligan	Energi Ikatan Bebas (kkal/mol)	Residu Asam Amino	Jumlah Res. Asam Amino sama dengan kontrol	Persamaan Residu Asam Amino	Kesimpulan
1	SleX (kontrol)	-8,8	Van der Waals : ALA142, LYS111, LYS 112, THR211, MET143, THR209, LYS210, ASN140 ; Conventional Hydrogen Bond : ASN208, THR147, ASP144, GLY110	-	-	Energi ikatan kuat
2	Kaempferol-3 glucoside	-9,5	Van der Waals: GLU156, GLN159, ALA155, LEU94, SER98, GLY102, ASN103, ASN334; Conventional Hydrogen Bond : GLN123; Pi- Cation : LYS152; Pi-Alkyl : PRO332; Pi-Pi Stacked : TYR336; Pi-Pi T-shaped : TRP97	0/12	0%	Energi ikatan kuat
3	5-caffeoylquinic acid	-9,5	Van der Waals : LYS168, ASN334, PRO335, GLY102, PRO332, ASN103, ALA155, GLU156, LYS152, TRP97, TYR336, LEU94; Conventional Hydrogen Bond : GLN159; Unfavorable Donor. : GLN338; Pi. Alkyl : ARG337	0/12	0%	Energi ikatan kuat
4	2-O transcaffeoyl-hydroxicitic acid	-9,0	Van der Waals : GLY102, TYR336, LYS168, THR163, ARG337, GLN159, GLU156, LEU94, ALA155; Conventional Hydrogen Bond : TRP97, LYS152, ASN334; Unfavorable Donor-Donor : GLN338	0/12	0%	Energi ikatan kuat
5	Tiliroside	-8,8	Van der Waals : LYS111, ASP144, MET143, THR209 , ASN208; Conventional Hydrogen Bond : ALA142, ASN140, THR211, THR147 ; Unfavorable Donor-Donor : LYS112; Pi-Alkyl : LYS210	4/12	33%	Energi ikatan kuat
6	Quercetin-3-rutinoside	-8,8	Van der Waals : LYS316, GLU319, TYR315, PHE307, PHE304, VAL346, PRO311; Conventional Hydrogen Bond : GLN347, ASN343, ILE310; Unfavorable Aceptor-Aceptor : ALA312; Unfavorable Donor-Donor : GLN347; Pi-Sigma : ALA312	0/12	0%	Energi ikatan kuat
7	Cryptochlorogenic Acid	-8,6	Van der Waals : PHE105, ASN103, GLN159, ARG337, LYS152, TYR148, SER98, PRO335, ASN334, THR163, LYS168; Conventional Hydrogen Bond : TRP97, GLY102, TYR336, GLN338; Unfavorable: Donor-Donor : GLN338	0/12	0%	Energi ikatan kuat
8	Cyclohexanecarboxylic Acid	-8,6	Van der Waals : GLY169, ASN164, ASN171, ASN341, ASN170, GLN87, PHE83, ASN84, THR78, GLN79, ASN352, SER80, THR348; Conventional Hydrogen Bond : THR163, GLN338, GLN162, GLU345	0/12	0%	Energi ikatan kuat
9	Isochlorogenic acid	-8,6	Van der Waals : ARG337, GLN338, LYS168, PRO332, ASN103, TRP97, SER98, GLY102, GLN159, PRO335, THR163, SER165, LYS168; Conventional Hydrogen Bond : LYS152, ASN334; Unfavorable Donor-Donor : TYR336	0/12	0%	Energi ikatan kuat
10	Kaempferol-3-O-rutinoside	-8,5	Van der Waals : ALA312, ASN308, PHE304, ILE310, PHE307, ASN 343; Conventional Hydrogen Bond : GLU319, LYS316, GLN347; Pi-Donor Hydrogen. Bond : TYR315, Pi-Pi T shapd : TYR315; Pi. Alkyl : VAL346	0/12	0%	Energi ikatan kuat
11	Quercetin-3-sambioside	-8,5	Van der Waals : MET143, THR209, LYS210, ALA142, ASN140 , GLY110, GLN145, LYS111 ; Conventional Hydrogen Bond :THR211, THR147, ASP144 ; Unfavorable Donor-Donor : LYS112	8/12	67%	Energi ikatan kuat
12	Feruloyl derivative	-8,5	Van der Waals : ASN103, GLY102, PRO335, TYR336, TRP97, GLU156, ASN334, THR163, LYS168; Conventional Hydrogen Bond: SER98, GLN159, GLN338; Alkyl : ARG337; Unfavorable Donor-Donor : LYS152	0/12	0%	Energi ikatan kuat
13	Feruloyl quinic acid derivative	-8,4	Van der Waals : PRO332, ASN103, GLY102, TYR336, GLN338, THR163, ARG337, LYS168; Conventional Hydrogen Bond : PRO335, GLN159; Carbon Hydrogen Bond : GLN123, Pi-Cation : LYS152	0/12	0%	Energi ikatan kuat
14	Quercetin-3-glucoside	-8,4	Van der Waals : LYS152, TRP97, ALA155, LEU94, SER98, TYR336, PRO335, ALA160, SER165, GLU156, GLN159; Conventional Hydrogen Bond : ASN334	0/12	0%	Energi ikatan kuat
15	Galloyl ester	-8,3	Van der Waals : PRO335, LYS152, TYR336, SER98, LYS168, SER165, THR163; Conventional Hydrogen Bond : GLU156, LEU94; Carbon Hydrogen Bond : ASN334, TRP97; Pi-Donor Hydrogen Bond : GLN159; Pi-Alkyl : ALA155	0/12	0%	Energi ikatan kuat
16	Myricetin	-8,3	Van der Waals : SER165, THR163, ALA155, LEU94, GLY102, ASN334, PRO335, TYR336; Conventional Hydrogen Bond : ARG337, GLN338, TRP97, LYS152; Pi-Donor Hydrogen Bond : GLN159	0/12	0%	Energi ikatan kuat
17	5-O caffeosylquinic acid	-8,1	Van der Waals : ASN164, LYS168, TRP97, GLY102, PRO335, LYS152; Conventional Hydrogen Bond : SER165, GLN159, SER98, TYR336; Unfavorable Donor-Donor : ASN334	0/12	0%	Energi ikatan kuat
18	Quercetin	-7,9	Van der Waals : SER165, THR163, TYR336, PRO335, ASN334; GLY102; Conventional Hydrogen Bond : ARG337, GLN338, LYS152, TRP97; Pi-Donor Hydrogen Bond : GLN159	0/12	0%	Energi ikatan kuat
19	Quercetin derivative	-7,7	Van der Waals : SER165, LYS168, THR163, TYR336, PRO335, GLY102, TRP97, ASN334; Conventional Hydrogen Bond : GLN338, ARG337, LYS152; Pi-Donor Hydrogen Bond : GLN159	0/12	0%	Energi ikatan kuat
20	Protocatechuic acid glucoside	-7,4	Van der Waals : ASN334, GLN123, PRO332, PRO335, ASN103, GLY102, SER98, TYR336, LEU94, ALA155, GLU156; Conventional Hydrogen Bond : LYS152, GLN159; Pi-Pi T-shaped : TRP97	0/12	0%	Energi ikatan kuat
21	5-hydroxymethylfurfural	-4,4	Van der Waals: LEU94, GLN159, TYR336, PRO335, LYS152, TRP97, GLY102, PRO332; Conventional Hydrogen Bond : SER98, ASN103	0/12	0%	Energi ikatan kuat

Keterangan : Data pada tabel yang ditampilkan di atas merupakan hasil dari penambatan dari 20 senyawa aktif *Hibiscus sabdariffa* dan kontrol SleX dengan SabA..

Tabel 4. Hasil prediksi Fisikokimia dan Penerapan Hukum Lipinski Senyawa Aktif *Hibiscus sabdariffa*

Senyawa	Parameter Fisikokimia				Kesimpulan
	HBD	HBA	Log P	BM	
Quercetin	5	7	1.9888	302.236	Memenuhi
Myricetin	6	8	1.6936	318.237	Memenuhi
Cryptochlorogenic acid	6	8	-0.6459	354.311	Memenuhi
Kaempferol-3-O-rutinoside	9	15	-1.3927	594.522	Tidak memenuhi
Protocatechuic acid glucoside	6	8	-1.7309	316.262	Memenuhi
Quercetin-3-rutinoside	10	16	-1.6871	610.521	Tidak memenuhi
Galloyl ester	7	10	2.5276	442.376	Memenuhi
2-O-transCaffeoyl-hydroxycinnamic Acid	6	8	-0.6022	370.266	Memenuhi
Kaempferol-3glucoside	7	11	-0.2445	448.38	Memenuhi
5- Caffeoylquinic acid	6	8	-0.6459	354.311	Memenuhi
Quercetin derivative	7	7	-3.0658	426.520	Memenuhi
Cyclohexanecarboxylic acid	6	8	-0.6459	354.311	Memenuhi
5-hydroxymethylfurfural	1	3	0.5844	126.111	Memenuhi
Isochlorogenic acid	6	8	-0.6459	354.311	Memenuhi
Feruloyl derivative (1-O-Feruloyl-beta-D-glucose)	5	9	-1.2429	356.327	Memenuhi
5-O-Caffeoylshikimic acid	5	7	0.1593	336.296	Memenuhi
Feruloyl quinic acid derivative	5	8	-0.3429	368.338	Memenuhi
Tilioside	7	10	1.7254	494.525	Memenuhi
Quercetin-3-samboside	16	10	-2.0756	596.494	Memenuhi
Quercetin-3-glucoside	8	12	-0.5389	464.379	Memenuhi

Keterangan: Data pada tabel yang ditampilkan diatas meliputi.Donor Hidrogen (HBD), Donor Acceptor (HBA), Koefisiensi Partisi (LogP), Berat Molekul (BM).

Hasil Data Fisikokimia

Dengan menggunakan parameter hukum lima lipinski, sifat fisikokimia dari senyawa aktif *Hibiscus sabdariffa* yang diprediksi dapat dilihat berdasarkan parameter berat molekul, log p, ikatan hidrogen donor, ikatan hidrogen aseptor dapat dilihat pada **Tabel 4** menunjukkan bahwa 18 senyawa aktif bunga *H. sabdariffa* berpotensi sebagai obat karena memenuhi parameter hukum lipinski dan terdapat senyawa yang tidak memenuhi.

Hasil Data Farmakokinetik

Dengan menggunakan parameter (ADMET), sifat farmakokinetik dari senyawa aktif *Hibiscus sabdariffa* yang diprediksi dapat dilihat melalui profil absorpsi intestinal, profil distribusi dengan menggunakan parameter BBB dan VDSS, profil metabolisme dengan menggunakan parameter CYP3A4 inhibitor dan CYP2D6 inhibitor, profil ekskresi dengan menggunakan parameter CLTOT, dan profil toksisitas menggunakan parameter LD₅₀ dapat dilihat pada **Tabel 5** menunjukkan bahwa senyawa aktif *H. sabdariffa* tidak memiliki potensi beracun.

PEMBAHASAN

Penambatan Senyawa Aktif Bunga *Hibiscus sabdariffa* terhadap BabA

Protein BabA merupakan protein yang terdapat di permukaan luar *H. pylori* yang berperan penting pada saat proses kolonisasi bakteri. Mekanisme adhesi protein BabA yaitu melakukan penempelan ke permukaan sel lambung dengan cara mengenali dan mengikat gula lewis-b yang dimediasi oleh jaringan ikatan hidrogen. Ikatan hidrogen terjadi ketika atom hidrogen yang bermuatan sebagian positif terikat dengan atom lain dan memiliki elektron bebas, seperti nitrogen, fluor, juga oksigen. Ikatan hidrogen ini terbentuk antara empat residu gula dari lewis-b yaitu Fuc1, GlcNac3, Fuc 4, dan Gal5 dan delapan asam amino dari BabA. Protein BabA memiliki domain adhesi ekstraseluler N-terminal, domain transmembran, dan domain sitoplasma C-terminal. Domain adhesi ekstraseluler N-terminal bertanggung jawab untuk mengikat lewis-b pada lapisan mukosa lambung, sedangkan domain sitoplasma C-terminal memiliki struktur yang terdiri dari lembaran β sheet yang tersusun dari untai β strand yang saling berhubungan dan domain transmembran memiliki

Tabel 5. Hasil Prediksi ADME dan Toksisitas Senyawa Aktif *Hibiscus sabdariffa*

Senyawa	Absorbsi	Distribusi	Metabolisme		Eksresi	Toksitas	
	AI (%)	BBB (Log BB)	VDSS (Log 1/kg)	CYP3A4 inhibitor	CYP2D6 inhibitor	CLTOT (Log ml/min/Kg)	LD ₅₀ (Mol/Kg)
Quercetín	77.207	-1.088	1.669	X	X	0.407	2.471
Myricetín	65.93	-1.483	1.317.	X	X	0.422	2.497
Cryptochlorogenic acid	20.029	-1.493	0.546	X	X	0.298	2.073
Kaempferol-3-O-rutínosíde	30.743	-1.669	1.710	X	X	-0.16	2.513
Protocatechuic acid Glucosíde	7.721	-1.31	- 0.608	X	X	0.559	2.478
Quercetín-3-rutínosíde	23.446	-1.899	1.683	X	X	-0.369	2.491
Galloyl ester	82.098	-1.847	-0.884	X	X	-0.189	2.668
2-O-transCaffeoyl-hydroxícític acid	0	-1.414	-0.429	X	X	0.396	2.462
Kaempferol-3glucosíde	48.052	-1.614	1.444	X	X	0.482	2.548
5-Caffeoylquiníc acid	36.377	-1.407	0.581	X	X	0.307	1.973
Quercetín derivátive	60.738	-2.274	0.909	X	X	0.407	2.481
Cyclohexanecarboxyclíc acid	20.029	-1.593	0.548	X	X	0.298	2.073
5-hydroxymethylfurfural	95.848	-0.361	-0.146	X	X	0.614	2.283
Isochlorogenic acid	38.377	-1.407	0.681	X	X	0.307	1.973
Feruroyl derivátive (1-O-feruroyl-beta-D-glucose)	52.623	-1.135	-0.273	X	X	0.166	2.157
5-O-caffeoylshíkímíc acid	51.654	-1.222	-0.307	X	X	0.429	1.855
Feruroyl quiníc acid derivátive	13.816	-1.387	-1.016	X	X	0.379	2.115
Tílírosíde	60.065	-1.609	0.655	X	X	-0.197	2.578
Quercetín-3-sambíosíde	21.603	-1.711	1.306	X	X	-0.342	2.484
Quercetín-3-glucosíde	47.999	1.846	1.846	X	X	0.394	2.541

Keterangan: Data pada tabel yang ditampilkan di atas merupakan prediksi ADME. dan toksisitas dengan pkCSM.

struktur heliks α dan membantu menempelkan protein BabA ke membran luar bakteri *Helicobacter pylori*¹². Penelitian ini menggunakan lewis-b tetrasaccharida sebagai kontrol dari protein BabA. Selain itu lewis-b tetrasaccharida ini dapat berikatan dengan protein BabA lebih baik¹².

Hasil uji *in silico* keduanya melalui metode *molecular docking* didapatkan nilai ΔG dan residu ligan yang terikat menunjukan hasil hampir sama dengan yang terdapat pada literatur, lewis-b tetrasaccharida ini juga memiliki angka yang valid untuk digunakan sebagai kontrol berdasarkan RMSD sehingga dapat dijadikan sebagai pembanding efektivitas hasil uji *in silico* melalui metode *docking* ligan senyawa aktif flavonoid *Hibiscus sabdariffa* terhadap BabA.

Berdasarkan nilai hasil penambatan terhadap protein BabA telah didapatkan empat senyawa terbaik

dari 20 senyawa yang diujikan yaitu kandidat pertama yang dipilih ialah Quercetin-3-glucoside yang merupakan senyawa dengan afinitas paling kuat dalam berikatan dibandingkan dengan 19 senyawa lainnya. Quercetin-3-glucoside memiliki nilai ΔG yang lebih tinggi dibanding kontrol. Dengan demikian menunjukkan bahwa senyawa Quercetin-3-glucoside mampu berikatan lebih baik dengan protein BabA serta dari uji penambatan terdapat kesamaan residu ligan yang terbentuk menunjukkan hasil sebanyak 39%, hal ini menandakan bahwa senyawa ini dapat berpotensi sebagai anti-adhesi namun tidak sama 100% dengan kontrol. Penelitian sebelumnya yang telah dikaji membuktikan bahwa quercetin berperan sebagai antibakteri dengan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki lagi sehingga bakteri akan mati dan penyebaran bisa dihambat¹³.

Kandidat kedua terbaik yang dipilih merupakan Quercetin-3-sambioside dengan nilai ΔG -9,1

kkal/mol menunjukkan bahwa Quercetin-3-sambioside memiliki jumlah afinitas yang tinggi dalam berikatan dengan protein BabA. Residu asam amino yang berinteraksi pada reseptor sebanyak tujuh dengan kesimpulan lima residu yang sama dengan kontrol ialah pada ikatan Van der Waals dan dua residu pada ikatan hidrogen.

Melalui penambatan antara senyawa aktif *Hibiscus sabdariffa* dan protein BabA telah dipilih kandidat ketiga yang terbaik yaitu Kaempferol-3-O-rutinoside dengan nilai ΔG yang lebih rendah dibanding nilai ΔG senyawa Quercetin-3-glucoside, namun masih tetap berada diatas kontrol. Dengan demikian menunjukkan bahwa kemampuan ikatan dengan protein target lebih baik. Adanya kesamaan interaksi residu yang diperoleh juga baik, sehingga hal ini meyakinkan adanya potensi senyawa Kaempferol-3-O-rutinoside sebagai anti-adhesi. Beberapa penelitian sebelumnya melaporkan bahwa kaempferol bekerja dengan cara berikatan pada bagian membran luar bakteri, menurunkan fluiditas membran sehingga bakteri dapat pecah dan mampu berperan sebagai antibakteri¹⁴.

Sedangkan untuk kandidat keempat yang terbaik yaitu Myricetin yang memiliki nilai ΔG yaitu sebesar -7,1 kkal/mol dan memiliki kesamaan residu yang terikat mendekati kontrol dengan persentase 39%. Nilai dari ikatan mencerminkan suatu jumlah energi tersedia untuk melakukan kerja dan jika didapatkan afinitas yang tinggi antara reseptor dan pada senyawa menunjukkan potensi senyawa tersebut sebagai obatpun semakin tinggi¹⁵.

Penambatan Senyawa Aktif Bunga *Hibiscus sabdariffa* terhadap SabA

Protein SabA merupakan salah satu protein yang dimiliki oleh *H. pylori*, berperan penting dalam proses penempelan bakteri. Struktur protein SabA yaitu terdiri dari dua domain yaitu domain adhesin ekstraseluler dan domain transmembran. Masing-masing domain memiliki peran, untuk domain adhesin ekstraseluler berperan untuk situs pengikatan dan memiliki lipatan *tetratricopeptide repeat* yang terdiri dari beberapa heliks α yang berulang sedangkan domain transmembran berguna menghubungkan domain adhesin ekstraseluler dengan membran luar bakteri¹⁶.

Penelitian ini menggunakan SleX sebagai kontrol dari protein SabA. Hasil uji *in silico* keduanya melalui metode *molecular docking* didapatkan nilai ΔG dan residu ligan yang terikat menunjukan hasil hampir sama dengan yang terdapat pada literatur. Berdasarkan uji validasi menunjukan nilai yang valid serta untuk mengetahui efektivitas hasil penambatan senyawa aktif flavonoid bunga *Hibiscus sabdariffa* terhadap SabA dapat digunakan SleX sebagai kontrol pembandingan¹⁶.

Berdasarkan nilai hasil penambatan terhadap protein SabA telah didapatkan dua senyawa terbaik dari 20 senyawa aktif untuk dicari perannya sebagai anti-adhesi yaitu kandidat pertama yang dipilih ialah Quercetin-3-sambioside. Quercetin-3-sambioside memiliki afinitas ikatan terhadap protein yang kuat

dengan ΔG yang diperoleh memiliki nilai yang hampir mendekati kontrol. Selain itu, kesamaan jumlah residu ligan yang terikat yang cukup tinggi menunjukan senyawa ini memiliki kesamaan sisi aktif dan dapat berpotensi sebagai anti adhesi. Pada penelitian sebelumnya didapatkan bahwa senyawa quercetin dapat mencegah terjadinya pembentukan biofilm bakteri, menghambat sintesis asam nukleat. Hal ini membuktikan senyawa ini berpotensi dalam membunuh bakteri supaya menjadi mudah¹⁷.

Adapun hasil uji penambatan antara senyawa aktif *Hibiscus sabdariffa* dan protein SabA didapat senyawa tiliroside yang merupakan kandidat kedua terbaik dikarenakan memiliki nilai ΔG yang tidak jauh berbeda dengan kontrol, menunjukkan potensi senyawa ini sebagai kandidat anti-adhesi dan berdasarkan hasil visualisasi memiliki kemiripan posisi ikatan residu asam amino sehingga senyawa aktif ini diprediksi memiliki aktivitas sebagai anti-adhesi. Terdapat penelitian mengenai tiliroside dilaporkan bahwa senyawa ini telah diuji potensinya sebagai antibakteri,¹⁸ tetapi masih belum ada yang membahas secara rinci mengenai potensinya sebagai anti-adhesi.

Analisa profil Fisikokimia dan Farmakokinetik Senyawa Aktif Bunga *Hibiscus sabdariffa* menggunakan pkCSM

Prediksi fisikokimia digunakan untuk menentukan agar potensi suatu senyawa untuk menjadi kandidat obat oral dapat diketahui dengan memenuhi dua atau lebih kriteria parameter yaitu berdasarkan aturan lipinski, meliputi ikatan hidrogen donor tidak lebih dari 5, ikatan hidrogen aseptor tidak lebih dari 10, nilai LogP tidak lebih dari 5 dan berat molekul tidak lebih dari 500¹⁹.

Berdasarkan hasil *docking* sebelumnya didapatkan 5 senyawa terbaik dari 20 senyawa aktif yang diujikan. Senyawa Quercetin-3-glucoside, Myricetin, Tiliroside, dan Quercetin-3-sambioside termasuk ke dalam senyawa yang memenuhi sedangkan senyawa Kaempferol-3-O-rutinoside termasuk kedalam senyawa yang tidak memenuhi berdasarkan aturan hukum lipinski, hal ini dikarenakan berat molekul yang melebihi batas dapat disimpulkan bahwa senyawa mengalami kesulitan untuk menembus lipid bilayer karena proses distribusinya terhambat²⁰. Lalu jika didapatkan nilai HBD tidak lebih dari 5 dan HBA tidak lebih dari 10 menunjukkan absorbsinya lambat dikarenakan ikatan-ikatan yang besar membutuhkan energi lebih banyak. Sedangkan jika didapatkan nilai dibawah dari lima pada parameter Log P mengindikasikan senyawa tidak dapat bertahan lebih lama pada lipid bilayer dan tidak terdistribusi secara merata keseluruh tubuh. Bila nilai yang didapat terlalu negatif mengindikasikan bahwa molekul tersebut tidak bisa melewati membran lipid bilayer dan cepat berinteraksi dengan air²¹. Dengan demikian Quercetin-3-glucoside, Myricetin, Tiliroside, dan Quercetin-3-sambioside dapat disimpulkan sebagai senyawa terbaik karena memenuhi aturan lipinski dibandingkan senyawa lainnya.

Langkah selanjutnya yaitu prediksi sifat farmakokinetik dan toksisitas disajikan **tabel 4**. Profil absorpsi yang memiliki nilai $< 30\%$ menandakan bahwa senyawa di prediksi buruk kemampuannya dalam absorpsi suatu obat pada usus dan dikatakan sangat baik bila nilainya $> 30\%$ ²². Pada senyawa Tiliroside, Kampferol-3-O-rutinoside, Myricetin dan Quercetin-3-glucoside memiliki nilai absorpsi $> 30\%$, hal ini menyimpulkan bahwa senyawa dapat terserap baik sedangkan Quercetin-3-sambioside didapatkan angka dibawah parameter yang menunjukkan bahwa senyawa sulit untuk diabsorpsi pada usus manusia dibanding dengan senyawa lain.

Volume distribusi (VDSS) yang tinggi $> 0,45$ dan dianggap rendah jika $< 0,15$, menunjukan bahwa obat tersebut lebih banyak terdistribusi di jaringan dari pada di plasma. Distribusi sangat baik didapatkan pada senyawa berikut yaitu meliputi senyawa Quercetin-3-sambioside, Kampferol-3-O-rutinoside, Tiliroside, Myricetin dan Quercetin-3-glucoside. Namun, apabila nilai *Blood Brain Barrier* (BLBB) $< 0,3 \log BB$ maka mengakibatkan senyawa tersebut sulit dalam melewati sawar darah otak²². Dua indikator yang digunakan untuk mengukur parameter metabolisme adalah CYP3A4 dan CYP2D6. Jika ditemukan CYP3A4 dan CYP2D6 maka senyawa tersebut tidak dapat dimetabolisme oleh sitokrom P450. Namun, hasilnya tidak ditemukan adanya CYP3A4 dan CYP2D6 sebagai inhibitor, sehingga senyawa aktif dapat termetabolisme dengan baik di hepar.

Prediksi ekskresi suatu zat yang masuk tubuh dapat dilakukan dengan mengukur *Total Clearance* (CLTOT). Dengan mengukur *Total Clearance* (CLTOT), maka dapat mengetahui perkiraan kecepatan ekskresi suatu zat yang masuk tubuh. Jika nilai ekskresi yang dihasilkan tinggi maka semakin cepat pula proses ekskresi yang dilakukan oleh ginjal, billier dan hepar²³. Uji LD₅₀ digunakan untuk prediksi toksisitas. Berdasarkan hasil uji toksisitas, terdapat 20 senyawa yang digunakan dan tidak menunjukan adanya toksisitas dikarenakan memiliki nilai LD₅₀ lebih dari 5000 mg/kg. Menunjukkan semua senyawa tidak memiliki potensi beracun pada 50% hewan coba yang diujikan²⁴.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil yang telah dilakukan dalam penelitian ini dapat disimpulkan :

1. Senyawa aktif bunga *H. Sabdariffa* dengan potensi sebagai anti-adhesi terbaik terhadap protein BabA didapatkan pada senyawa Quercetin-3-glucoside, Quercetin-3-sambioside, Kaempferol-3-O-rutinoside dan Myricetin memiliki binding affinity lebih baik dibanding kontrol.
2. Senyawa aktif bunga *H. Sabdariffa* dengan potensi sebagai anti-adhesi terbaik terhadap protein SabA didapatkan pada senyawa Quercetin-3-sambioside dan Tiliroside.

SARAN

Adapun saran yang dapat diusulkan guna menunjang penelitian selanjutnya dengan :

1. Melakukan penelitian lebih lanjut secara *in vitro* dan *in vivo* untuk melihat perannya sebagai anti-adhesi pada senyawa Quercetin-3-glucoside, Quercetin-3-sambioside, Kaempferol-3-O-rutinoside dan Myricetin.
2. Melakukan penelitian lebih lanjut secara *in vitro* dan *in vivo* untuk melihat perannya sebagai anti-adhesi pada senyawa Quercetin-3-sambioside dan Tiliroside.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih penulis sampaikan kepada Ikatan Orang Tua Mahasiswa (IOM) dan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang yang telah mendanai penelitian dan juga kepada dr. Rahma Triliana, M.Kes, Ph.D sebagai *peer reviewer*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Thaker, Y., Moon, A., Afzali, A. 2016. *Helicobacter pylori*: a review of epidemiology, treatment, and management. **Journal Clinical Gastroenterol Treat.** 2(2), 1-5.
2. Departemen Kesehatan, Republik Indonesia. 2012. Profil Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
3. Kemenkes RI. 2011. Riset Kesehatan Dasar,. RISKESDAS. Jakarta: Balitbang Kemenkes RI.
4. Dang, C., Okagu, O., Sun, X., Udenigwe, C. C. 2022. Bioinformatics analysis of adhesin-binding potential and ADME/Tox profile of anti-*Helicobacter pylori* peptides derived from wheat germ proteins. **Heliyon.** 8(6).
5. Matos, R., Amorim, I., Magalhaes, A., Haesebrouck, F., Gartner, F., & Reis, C.A. 2021. Adhesion of *Helicobacter* species to the human gastric mucosa: a deep look into glycans role. *Frontiers in molecular biosciences*, 8, 656439.
6. Da-Costa-Rocha I, Boonlaender B, Sievers H, Pischel I, Heinrich M. 2014. Hibiscus sabdariffa L., A phytochemical and pharmacological review. **Food Chemistry.** 165, Pp.424-443.
7. Andreas Hensel, Melaine Deipenbrock. 2019. Polymethoxylated flavones from *Orthosiphon stamineus* leaves as antiadhesive compounds against uropathogenic *E. coli*. **Fitoterapia.** 139, 104387.
8. Islami, A. B. 2021. Potensi Antiadhesi Senyawa Flavonoid Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) dalam Berikatan dengan Protein Adhesin GbpA *Vibrio cholerae*. Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang.

9. Singh, R., Spyraakis, F., Cozzini, P., Paiardini, A., Pascarella, S., & Mozzarelli, A. 2013. Chemogenomics of pyridoxal 5-phosphate dependent enzymes. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, 28(1), 183-194.
10. Masters, L., Eagon, S., Heying, M. 2020. Evaluation of consensus scoring methods for AutoDock Vina, smina and idock. **Journal of Molecular Graphics and Modelling**. 96, 107532.
11. Rauf, M. A., Zubair, S., Azhar, A. 2015. Ligand docking and binding site analysis with pymol and autodock/vina. **International Journal of Basic and Applied Sciences**. 4(2), 168.
12. Hage, N., Howard, T., Phillips, C., Brassington, et al. 2015. Structural basis of Lewisb antigen binding by the Helicobacter pylori adhesin BabA. **Science advances**. 1(7), e1500315
13. Nguyen, T. L. A., Bhattacharya, D. 2022. Antimicrobial activity of quercetin: an approach to its mechanistic principle. **Molecules**. 27(8), 2494.
14. Sabah, F. S. 2021. Flavonoids, their types, chemistry and therapeutic efficacy. **Misan Journal of Academic Studies**. 20(41), 45-64.
15. Oleiwi, A. Q., Al-Jeilawi, O. H., Dayl, S. A. 2023. Synthesis, Characterization of Some Thiourea Derivatives Based on 4-Methoxybenzoyl Chloride as Antioxidants and Study of Molecular Docking. **Iraqi Journal of Science**. 1-12.
16. Pang, S. S., Nguyen, S.T.S., Perry, A.J., Day, C.J., Panjekar, S., Tiralongo, J., Whisstock, J.C., Kwok, T., 2014. The three-dimensional structure of the extracellular adhesion domain of the sialic acid-binding adhesin SabA from Helicobacter pylori. **Journal of Biological Chemistry**. 289(10), 6332-6340.
17. Pruteanu, M., Hernandez Lobato, J. I., Stach, T., Hengge, R. 2020. Common plant flavonoids prevent the assembly curli fibres and can interfere with bacterial biofilm formation. **Environmental Microbiology**. 22(12), 5280-5299.
18. Luhata, L. P., Luhata, W. G. 2017. Tiliroside: biosynthesis, bioactivity and structure activity relationship (SAR)-A review. **Journal Phytopharmacol**. 6, 343-8.
19. Hanoush, D. A., Al-Auqaili, A. H., Mansour, M., Ghosh, A. 2022. Molecular Docking, Molecular Dynamic Simulation and ADME of Some Plant Extracts and their Effects on COVID-19 Patients. **Tropical Journal of Natural Product Research**. 6(8).
20. Sugita, M., Sugiyama, S., Fujie, T., Yoshikawa, Y., Yanagisawa, K., Ohue, M., Akiyama, Y. 2021. Large-scale membrane permeability prediction of cyclic peptides crossing a lipid bilayer based on enhanced sampling molecular dynamics simulations. **Journal of chemical information and modeling**. 61(7), 3681-3695.
21. El-Din, H. M. A., Loutfy, S. A., Fathy, N., Elberry, M. H., Mayla, A. M., Kassem, S., Naqvi, A. 2016. Molecular docking based screening of compounds against VP40 from Ebola virus. **Bioinformation**. 12(3), 192.
22. Pires, D. E., Blundell, T. L., Ascher, D. B. 2015. pkCSM: predicting small-molecule pharmacokinetic and toxicity properties using graph-based signatures. **Journal of medicinal chemistry**. 58(9), 4066-4072.
23. Iwata, H., Matsuo, T., Mamada, H., Motomura, T., Matsushita, M., Fujiwara, T., Handa, K. 2021. Prediction of total drug clearance in humans using animal data: Proposal of a multimodal learning method based on deep learning. **Journal of Pharmaceutical Sciences**. 110(4), 1834-1841.
24. Malik, A., Manan, A., & Mirza, M.U. 2017. Molecular docking and in silico ADMET studies of silibinin and glycyrrhetic acid anti-inflammatory activity. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, 16(1), 67-74..