

**Studi *In Silico*: Potensi Antiadhesi Senyawa Flavonoid  
Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L) dalam  
Berikatan dengan Protein Adhesi *IcsA* pada Bakteri  
*Shigella flexneri***

**SKRIPSI**

**Untuk Memenuhi Persyaratan  
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



**RIZKY FAJAR IMAM ASSHIDDIQ  
21601101067**

**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS ISLAM MALANG  
2021**



**Studi *In Silico*: Potensi Antiadhesi Senyawa Flavonoid  
Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L) dalam  
Berikatan dengan Protein Adhesi *IcsA* pada Bakteri  
*Shigella flexneri***

**SKRIPSI**

**Untuk Memenuhi Persyaratan  
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



Oleh

**RIZKY FAJAR IMAM ASSHIDDIQ  
21601101067**

**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS ISLAM MALANG  
2021**



**Studi *In Silico*: Potensi Antiadhesi Senyawa Flavonoid Kelopak  
Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L) dalam Berikatan dengan  
Protein Adhesi *IcsA* pada Bakteri *Shigella flexneri***

**SKRIPSI**

**Untuk Memenuhi Persyaratan  
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS ISLAM MALANG  
2021**

## RINGKASAN

**Asshiddiq, Rizky Fajar Imam.** Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang. April 2021. Studi *In Silico*: Potensi Antiadhesi Senyawa Flavonoid Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L) dalam Berikatan dengan Protein Adhesi *IcsA* pada Bakteri *Shigella flexneri*. Pembimbing 1 : Arif Yahya. Pembimbing 2 : Rio Risandiansyah. Pemilik pohon penelitian : Rio Risandiansyah

**Pendahuluan :** Diare masih merupakan salah satu penyakit dengan prevalensi tinggi Di Indonesia.. Bakteri *S. flexneri* salah satu penyebab diare yang dapat menginfeksi melalui proses adhesi dengan reseptor di permukaan sel-sel epitel gastrointestinal. Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L) memiliki potensi antiadhesi terhadap bakteri Gram negatif, yang salah satunya adalah bakteri *S. flexneri*. Penelitian ini bertujuan untuk identifikasi potensi senyawa aktif *H. sabdariffa* L dalam menghambat adhesi *S. flexneri* melalui pelekatan protein targetnya, *IcsA*, suatu faktor virulensi *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) dari RCSB protein data bank (PDB). Proses *molecular docking* menggunakan *docking server*. Penilaian menggunakan empat parameter utama yaitu: nilai energi ikatan bebas, konstanta inhibisi, nilai interaksi permukaan dan residu asam amino.

**Hasil :** Beberapa senyawa aktif dari *H. sabdariffa* L memiliki afinitas yang baik. 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 ikatan residu asam amino terletak pada domain diseminasi bukan pada domain adhesi.

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

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

## SUMMARY

**Asshiddiq, Rizky Fajar Imam.** Faculty of Medicine, Islamic University of Malang, April 2021. *In Silico* Study: Anti-adhesion Potential of Flavonoid Compounds from Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L) in Binding to IcsA Adhesion Protein in *Shigella flexneri* Bacteria. Supervisor 1: Arif Yahya. Supervisor 2: Rio Risandiansyah. Owner of Research Tree : Rio Risandiansyah.

**Introduction :** Diarrhea is one of the diseases which has a high prevalence in Indonesia. A bacterium *Shigella flexneri* has been known to be the leading cause of diarrhea through mechanism of adhesion with gastrointestinal epithelial cells receptors of the host. Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L) is potential in the inhibition of gram negative bacteria, *S. flexneri*. This study aimed to identify whether active compounds of *H. sabdariffa* L result in the inhibition of *S. flexneri* adhesion via *IcsA* binding protein target.

**Methods :** This *in silico* study used molecular docking method through tethering the 3D structure of 25 active compounds acquired from *H. sabdariffa* L. The compounds were obtained from Pubchem, and target protein *IcsA S. flexneri* (5KE1) from RCSB protein data bank (PDB) and then we used docking server to establish molecular docking. The assessment uses four main parameters including free bond energy value, inhibition constanta, surface interaction and the number of amino acid residu.

**Result :** Several compounds from *H. sabdariffa* L was found good affinity of *IcsA*. 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 constanta 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 amino acid residue bonds located in the dissemination domain not the adhesion domain.

**Clonclusion :** *Quercetine-3-rutinoside*, *Leucoside (kaempferol-3-O-sambioside)*, *Quercetine-3-glucoside*, *Tiliroside*, *Caffeoylquinic acid isomer (Isochlorogenic)* can bind virulence factor *IcsA* but not potential to be used as an anti-adhesion against *S. flexneri*.

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

## BAB I PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) 2007 menunjukkan prevalensi diare secara nasional adalah 9% (CHR = 2,48%) (berdasarkan diagnosis tenaga kesehatan dan keluhan responden). Hal tersebut menunjukkan tingginya angka penyakit akibat diare di Indonesia (Anorital *et.al.* 2011).

Salah satu penyebab diare adalah infeksi oleh bakteri *Shigella* yang dapat menyebabkan kram perut diare yang sering bercampur dengan darah, disertai demam dan bahkan dapat terjadi peradangan usus. (Wardhani LS *et.al.* 2012). *Shigellosis* sendiri adalah penyakit infeksi yang disebabkan oleh berbagai spesies *Shigella* diantaranya *Shigella flexneri*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella sonnei*, dan *Shigella boydii*. Bakteri *Shigella* termasuk dalam famili *Enterobacteriaceae*, maka akan memiliki karakteristik yang serupa dengan bakteri pada famili tersebut, yakni berbentuk batang dan ber-Gram negatif, non-motil, anaerob fakultatif, tidak dapat membentuk spora dan lebih tahan asam dibanding enteropatogen lain (Jawetz *et al.*, 2005). Di Indonesia spesies yang banyak ditemukan adalah *S. flexneri*, *S. sonnei* dan *S. dysenteriae* (Tjaniadi *et al.*, 2003).

Agar dapat terjadi infeksi, suatu bakteri harus melakukan paparan, adhesi, invasi, dan kolonisasi. Tahap awal dari infeksi suatu bakteri adalah proses adhesi, hal ini memiliki peran dalam kolonisasi pada bagian permukaan dari sel inang (Wibawan *et al.*, 1992; Shuter *et al.*, 1996). Kemampuan pelekatan bakteri pada sel inang bergantung pada molekul

pelekatan yang disebut adhesin (Khusnan and Salasia, 2006). Adhesi ini diperantarai oleh protein target *IcsA*. Protein *IcsA* adalah suatu protein autotransporter yang termasuk dalam faktor virulensi dari bakteri *Shigella*, namun berperan penting pula untuk adhesi pada sel inang. *IcsA* akan membantu diseminasi dari bakteri *Shigella* dari menggunakan *Actin Based Motility* (ABM) dimana *IcsA* mempolimerisasi aktin sel inang dan memfasilitasi motilitas antar sel. Selain itu, *IcsA* berkontribusi dalam pembentukan biofilm *S. flexneri* (Koseoglu VK et.al., 2019).

Proses adhesi ini diawali oleh garam empedu (*deoxycolat*) yang memicu aktivasi molekul bakteri T3SS serta protein target *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 membran dari sel inang sehingga materi bakteri bisa disisipkan menembus membran inang (sehingga terjadi invasi) bakteri. (Schroeder GN and Hilbi H. 2008).

Salah satu herbal yang diketahui bersifat menghambat adhesi dan pembentukan biofilm adalah *Hibiscus sabdariffa*. Tanaman ini telah diteliti sebagai pencegah infeksi UTI (infeksi saluran kemih) yang disebabkan oleh bakteri (Mohamed-Salem R et.al., 2019). Konsentrasi aktivitas antibakteri ekstrak etanol bunga rosella terhadap *Streptococcus pyogenes* adalah 5%, 10%, 20% dan 30%, dan diameter zona hambat rata-rata masing-masing

7,13 mm, 8,4 mm, 10,2 mm dan 13,3 mm. Dapat juga diketahui dari hasil tersebut bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol pada kelopak bunga mawar maka semakin besar diameter zona hambatnya (Yoo Soo Ji et al., 2012). Studi lain juga menunjukkan ekstrak *Hibiscus sabdariffa* sebanyak 3,125 mg/ml terbukti efektif menekan biofilm yang dibentuk oleh *Candida albicans* dan mampu menghambat inisiasi hifa serta aktivitas sel. Selanjutnya, ekstrak *Hibiscus sabdariffa* mampu membunuh sel *Candida* secara efektif sehingga dapat mengurangi jumlah koloni yang dapat menginfeksi (Dwivedi, M. et.al. 2020). Hal diatas menjelaskan bahwa proses adhesi merupakan proses penting dalam infeksi bakteri yang diperantarai protein target *IcsA* dan herbal Rosella merupakan salah satu herbal yang memiliki potensi anti-adhesi dan antibakteri. Namun, belum diketahui secara pasti mengenai potensi anti-adhesi herbal ini terhadap bakteri *Shigella flexneri*. Hal ini menjadi alasan dalam pemilihan protein target dan herbal yang akan digunakan, dengan tujuan ingin mengetahui lebih lanjut mengenai potensi senyawa aktif dari herbal Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) dalam menghambat protein target *IcsA* pada bakteri *Shigella flexneri*.

Penelitian ini dilakukan melalui pendekatan *in silico*, dengan menambatkan ligan dari senyawa 25 zat aktif Flavonoid herbal Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) (Da costa RI. et.al. 2014), dengan protein target *IcsA* Dengan dilakukannya penelitian ini diharapkan dapat melihat atau mengetahui jenis senyawa yang paling berpotensi sebagai anti-adhesi dan apakah senyawa tersebut juga dapat digunakan pada spesies *Shigella* yang lain.



## 1.2. Rumusan Masalah

- 1.2.1. Apakah senyawa aktif kelopak bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa L*) dapat berikatan dengan protein adhesi *IcsA* pada bakteri *Shigella flexneri* dengan studi *In Silico* metode *Molecular docking*?
- 1.2.2. Apakah senyawa aktif kelopak bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) dapat berikatan pada binding site adhesi dari *IcsA* pada bakteri *Shigella flexneri*?

## 1.3. Tujuan Penelitian

- 1.3.1. Membuktikan senyawa aktif kelopak bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) dapat berikatan dengan protein adhesi *IcsA* pada bakteri *Shigella flexneri* dengan studi *In Silico* metode *Molecular docking*.
- 1.3.2. Membuktikan senyawa aktif kelopak Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) dapat berikatan pada binding site adhesi dari *IcsA* pada bakteri *Shigella flexneri*?

## 1.4. Manfaat Penelitian

### 1.4.1. Manfaat Teoritis

1. Memberikan landasan ilmiah mengenai potensi antiadhesi dari penggunaan kelopak bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa L*).

- 1.4.2. Menginformasikan bahwa zat aktif *Flavonoid* dari kelopak Rosella (*Hibiscus sabdariffa L*) dapat berikatan pada binding site adhesi dari *IcsA* pada bakteri *Shigella flexneri*.

### 1.4.3. Manfaat Praktis

1. Menjadi landasan ilmiah digunakannya kelopak Rosella (*Hibiscus sabdariffa L*) sebagai obat antiadhesi.
2. Menjadi landasan teori untuk modifikasi ligan yang dapat mengikat protein adhesin *IcsA* yang terdapat pada bakteri *Shigella flexneri*.

## BAB VII PENUTUP

### 7.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil studi *in silico* didapatkan hasil bahwa senyawa flavonoids (*Quercetin-3-rutinoside*, *Leucoside(kaempferol-3-O-sambubioside)*, *Quercetin-3-glucoside*, *Kaempferol-3-O-rutinoside*, *Quercetin-3-sambioside*, *Tiliroside*, *Caffeoylquinic acid isomer*, *Cyclohexanecarboxylic acid*, *4-((3,4-dihydroxyphenyl)-1-oxo-2opropenyl)oxy)-1,3,5-trihydroxy*, *5-Caffeoylquinic acid*) dapat berikatan dengan protein target *IcsA*, namun tidak berikatan pada binding site adhesi bakteri ini melainkan pada binding site diseminasi, sehingga penulis menarik kesimpulan bahwa senyawa aktif kelopak bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) dapat berikatan dengan protein target *IcsA Shigella flexneri* dengan baik, namun tidak memiliki fungsi sebagai antiadhesi melainkan fungsi anti diseminasi bakteri.

### 7.2. Saran

Peneliti menyarankan hal – hal berikut guna menunjang penelitian selanjutnya untuk pengembangan dan kemajuan ilmu pengetahuan.

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 dan anti diseminasi *H. sabdariffa L* pada *S. flexneri*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdel Shafi S. et.al. 2019. Antimicrobial Activity and Chemical Constitution of the Crude, Phenolic Rich Extracts of *Hibiscus sabdariffa*, *Brassica oleracea* and *Beta vulgaris*. *Molecules*. Nov 24;24(23):4280. doi: 10.3390/molecules24234280.
- Adamczak, et al. 2020. Antibacterial Activity of Some Flavonoids and Organic Acids Widely Distributed in Plants. *J. Clin. Med.* , 9, 109.
- Amin L.Z. 2015. Tatalaksana Diare Akut. *Continuing Medical Education*. 42 (7), 504–508.
- Anorital, Andayasari L, 2011. Kajian Epidemiologi Penyakit Infeksi Saluran Pencernaan Yang Disebabkan Oleh Amuba Di Indonesia. *Media Litbang Kesehatan Volume 21 Nomor 1*.
- Arwansyah, Laksmi, A. Tony I. Sumaryada. 2014. Simulasi Docking Senyawa Kurkumin dan Analognya Sebagai Inhibitor Reseptor Androgen pada Kanker Prostat. *Current Biochemistry*. 1, 11-19.
- Asadi A. Razavi S. Talebi M. et.al. 2019. A review on anti adhesion therapi of bacterial diseases. *Infection*. 47 : 13–23.
- Bikadi, Z. and Hazai, E. 2009. “Application of the PM6 semiempirical method to modeling proteins enhances docking accuracy of AutoDock”. *Journal of Cheminformatics*. 1(15)
- Castellani and Chalmers. 1919. Interagency Taxonomic Information System. *Shigella*. Website updated 2012.

- Crim et al. 2014. Disparities in severe shigellosis among adults — Foodborne diseases active surveillance network, 2002–2014. Division of Foodborne, Waterborne and Environmental Diseases, Centers for Disease Control and Prevention. USA
- Da Costa Rocha I. et.al. 2014. *Hibiscus sabdariffa* L A phytochemical and pharmacological review. *Food Chemistry*. Vol 165 : 424-443. ISSN 0308-8146.
- BPOM RI. 2010. Serial data ilmiah terkini tanaman obat rosella (*Hibiscus sabdariffa* L). Jakarta. Hal.1-4,10.
- Doyle MT. Grabowicz M. Morona R. 2015. A small conserved motif supports polarity augmentation of *Shigella flexneri* IcsA. *Microbiology* (Reading, England). Nov;161(11):2087-2097.
- Dwivedi, M. Muralidhar, S. & Saluja, D. 2020. *Hibiscus sabdariffa* Extract Inhibits Adhesion, Biofilm Initiation and Formation in *Candida albicans*. *Indian Jurnal Microbiology* **60**, 96–106.
- El Gendy, A. et.al. 1999. Identification of *Shigella flexneri* Subserotype 1c in Rural Egypt. *Journal of Clinical Microbiology*. 37(3): 873–874.
- Firmasyah, R.R. 2015. “Efek Antihipertensi Dekokta Daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens*) Melalui Penghambatan tACE (Studi In Silico)”. Malang : Fakultas Kedokteran UNISMA
- Fithria R.F. and Di’fain A.R. 2015. Rasionalitas Terapi Antibiotik Pada Pasien Diare Akut Anak Usia 1 sampai 4 Tahun di Rumah Sakit Banyumanik Semarang Tahun 2013. *Pharmacy*. 12 (02), 197–209.

- Herve Agaisse. 2016. Molecular and Cellular Mechanism of *Shigella flexneri* Dissemination. *Frontier in Cellular and Infection Microbiology*. US.
- IDAI. 2009. Pedoman Pelayanan Medis Ikatan Dokter Anak Indonesia ; Diare. Palembang
- IDI. 2014. Panduan Praktik Klinis Bagi Dokter Di Fasilitas Pelayanan Kesehatan Primer ; Disentri Basiler dan Disentri Amuba. Jakarta
- Iwalokun et.al. 2001. Epidemiology of shigellosis in Lagos, Nigeria: trends in antimicrobial resistance. *National Center for Biotechnology Information*. US
- Jawetz, E. Melnick, J.L. dan Adelberg, E.A. 2005. Mikrobiologi Kedokteran, Penerbit Salemba Medika. Edisi XXII. Jakarta. 327-335, 362-363.
- Ji YS, Lestari ND, Rinanda T. 2012. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) Terhadap *Streptococcus pyogenes* Secara *In Vitro*. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala Volume 12 Nomor 1. Aceh*
- Jilong Qin et.al. 2020. The virulence domain of *Shigella* IcsA contains a subregion with specific host cell adhesion function. *PLOS ONE* 15(1): e0227425.
- Karin Khnel, Dagmar Diezmann. 2011. Crystal Structure of the Autochaperone Region from the *Shigella flexneri* Autotransporter IcsA. *Journal of Bacteriology*. 193 (8) 2042-2045.
- Kerrie L. May and Renato Morona. 2008. Mutagenesis of the *Shigella flexneri* Autotransporter IcsA Reveals Novel Functional Regions Involved in IcsA

Biogenesis and Recruitment of Host Neural Wiscott Aldrich Syndrome Protein. *Journal Of Bacteriology*. Australia. p. 4666–4676.

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.

Kim SG, Song KY, Lee HH, et al. 2019. Efficacy of an antiadhesive agent for the prevention of intra-abdominal adhesions after radical gastrectomy: A prospective randomized, multicenter trial. *Medicine (Baltimore)*.

Koseoglu VK, Agaisse H. 2019. Evolutionary perspectives on the moonlighting functions of bacterial factors that support actin based motility. *MBio*. PubMed Central PMCID: PMC6712393.

Krachler, A. M. and Orth, K. 2013. Targeting the bacteria host interface: strategies in anti-adhesion therapy. *Virulence*. 4(4) : 284–294.

Latour RA. Perspectives on the simulation of protein–surface interactions using empirical force field methods. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2014.1(0):25–37

Lehninger, Albert L. 1982. *Dasar-dasar Biokimia*. Bogor : PT Gelora Aksara Pratama.

Li WR, et al. 2016. Antifungal activity, kinetics and molecular mechanism of action of garlic oil against *Candida albicans*. *Scientific Reports*. 6(1):228–05.

Lin, Hui Hsuan et.al. 2012. *Hibiscus sabdariffa* induces apoptosis of human prostate cancer cells in vitro and in vivo. *Food Chemistry*. 132. 880–891.

- Maryani, Herti dan L. Kristiani. 2005. *Khasiat dan Manfaat Rosella*. Jakarta : Agromedia Pustaka.
- McConkey BJ, Sobolev V, Edelman M. 2002. "The performance of current methods in ligand-protein docking". *Current Science*. 83(7)
- Mohamed-Salem, R., et.al. 2019. Aqueous extract of *Hibiscus sabdariffa* inhibits pedestal induction by enteropathogenic *E. coli* and promotes bacterial filamentation in vitro. *PLOS ONE*, 14(3): e0213580.
- Mubarika, S.A.Z. Dewi, A.R. and Damayanti D.S. 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.
- Nurnasari E dan Khuluq AD. 2017. *Potensi diversifikasi herbal rosella (Hibiscus Sabdariffa L.) untuk Pangan dan Kesehatan*. Balai penelitian tanaman pemanis dan serat. Malang Jawa Timur.
- Ogawa Michinaga *et.al.* 2005. Escape of Intracellular *Shigella* from Autophagy. *American Association for the Advancement of Science*. Vol. 307.
- Purnomo, Y. *et al.* 2015. "Anti Diabetic Potential of *Urena lobata* leaf Throught Inhibition of DPP-IV Activity". *Asian Pac J Trop Biomed*. 5(8)
- Puspitasari, RK. et al. 2015. "Studi In Silico Dekokta Daun Salam (*Syzygium polyanthum*)". *Jurnal Kedokteran Komunitas*. 3
- Rarey, M., Kramer, B., & Lengauer, T. 1998. "Docking of hydrophobic ligands with interaction-based matching algorithms". *J. Comput. Aided Mol.* 4.

- Riaz G dan Chopra R. 2018. A review on phytochemistry and therapeutic uses of *Hibiscus sabdariffa* L. *Biomedicine & pharmacotherapy*. 102: 575-586
- Sa'diyah H. 2009. Pengaruh Invigorasi Menggunakan Polietilena Glikol (PEG) 6000 Terhadap Viabilitas Benih Rosella (*Hibiscus sabdariffa* var. *altissima*). Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Malang.
- Scallan E, et.al. 2011. Foodborne illness acquired in the United States major pathogens. *Emerging Infectious Diseases*. 17:7-12.
- 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.
- Shuter, J. Hatcher, V.B. Lowy, F.D. 1996. *Staphylococcus aureus* binding to human nasal mucin. *Infect Immun*. Vol.64(1): 310-318
- Steenis, J., 2006. *Flora Untuk Sekolah di Indonesia*. Jakarta: Pradnya Paramita
- Stefan Leupold, et.al. 2017. Structural insights into the architecture of the *Shigella flexneri* virulence factor IcsA/VirG and motifs involved in polar distribution and secretion. *Journal of Structural Biology*. Volume 198.
- Sugiarto, Bambang et al. 2007. *Kimia Dasar 1*. Surabaya : UNESA University Press.
- Suriana, N. 2011. *Bawang bawa untung budidaya bawang merah dan bawang putih*. Cahaya alam pustaka. Yogyakarta



- Tanjong A. 2011. Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa L*) Terhadap Koloni *Candida Albicans* Yang Terdapat Pada Plat Gigitiruan. Fakultas Kedokteran Gigi. Universitas Hasanuddin. Makassar
- Tefan Leupold, *et al.* 2017. Structural insights into the architecture of the *Shigella flexneri* virulence factor IcsA/VirG and motifs involved in polar distribution and secretion. *Journal of Structural Biology*. Volume 198, Issue 1, Pages 19-27.
- Teh MY, dan Morona R. 2013. Identification of *Shigella flexneri* IcsA residues affecting interaction with N-WASP, and evidence for IcsA to IcsA cooperative interaction. *Plos one* ;8(2):e55152.
- 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
- 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
- Wibawan, *et.al.* 1992. Serotyping and Further Characterization Of Group B Streptococcal Isolates From Indonesia. *Zentral bl Bakteriol*. Vol.277(2): 260-266
- Wijayanti P. 2010. Budidaya Tanaman Obat Rosella Merah (*Hibiscus sabdariffa L*) dan Pemanfaatan Senyawa Metabolis Sekundernya. Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret. Surakarta

Yoo Soo J. Nova DL. dan Tristia R. 2012. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus Sabdariffa* L) Terhadap *Streptococcus Pyogenes* Secara *In Vitro*. Jurnal Kedokteran Syiah Kuala. Volume 12 Nomor 1. Malaysia

