

Pemodelan Interaksi Protein GF14–XopQ secara *In-Silico* sebagai Pendekatan Bioinformatika untuk Mendukung Studi Ketahanan Padi terhadap *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo)

In-Silico Modeling of GF14–XopQ Protein Interactions as a Bioinformatics Approach to Support Rice Resistance Studies against *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo)

*Nur Andita Prasetyo¹, Yagus Wijayanto¹, Ach. Fauzan Mas'udi¹, Adin Novitasari¹, Aminatun Nisa¹, Much. Misbah Muhtadi¹, Sri Rejeki Utami¹, Agus Wedi Pratama¹, Mas'ud Hermansyah², Stanislaus Jiwandana Pinasthika³

¹Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember

²Program Studi Bisnis Digital, Jurusan Bisnis, Politeknik Negeri Jember

³Program Studi Informatika, Fakultas Ilmu Komputer, Universitas Jember

KATA KUNCI

Bioinformatics,
Docking,
GF14,
Protein-protein
interaction,
Xoo,
XopQ

ABSTRAK

Protein GF14 berperan penting dalam regulasi jalur sinyal pertahanan tanaman, sementara XopQ merupakan efektor utama yang disekresikan *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo) untuk menekan imunitas padi. Akan tetapi, mekanisme interaksi GF14–XopQ belum dipahami secara komprehensif. Penelitian ini memodelkan interaksi GF14–XopQ menggunakan pendekatan bioinformatika melalui *docking* protein–protein menggunakan ClusPro dan estimasi energi ikatan menggunakan PRODIGY. Dari 30 *cluster* yang dihasilkan, *Cluster* 4 merupakan model paling stabil dengan energi bebas ikatan $\Delta G = -11,5$ kcal/mol dan *dissociation constant* (*Kd*) $\approx 3,4 \times 10^{-9}$ M. Analisis antarmuka mengungkap dominasi interaksi hidrofobik, ikatan hidrogen, dan kontak elektrostatik pada *groove* konservatif GF14. Temuan ini mengindikasikan bahwa XopQ berpotensi berikatan kuat dengan GF14 dan mungkin mengganggu jalur pertahanan padi. Hasil penelitian ini menjadi dasar bagi studi lanjutan seperti pemodelan mutasi, dinamika molekuler, dan validasi eksperimental.

HISTORI ARTIKEL

Diterima : 27-11-2025

Direvisi : 13-1-2026

Diterbitkan: 24-1-2026



This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.

ABSTRACT

Peatlands Protein GF14 (family 14-3-3) plays an important role in regulating plant defense signaling pathways, while XopQ is a key effector secreted by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo) to suppress rice immunity. Until now, the mechanism underlying the GF14–XopQ interaction has not been comprehensively understood. This study models the GF14–XopQ interaction using a bioinformatics approach through protein–protein docking with ClusPro and binding energy estimation using PRODIGY. Out of 30 clusters generated, the Cluster 4 was the most stable model with a binding free energy of $\Delta G = -11.5$ kcal/mol and a dissociation constant (*Kd*) of approximately 3.4×10^{-9} M. Interface analysis revealed the dominance of hydrophobic interactions, hydrogen bonds, and electrostatic contacts at the conserved groove of GF14. These findings suggest that XopQ may bind strongly to GF14 and potentially disrupt rice defense pathways. The results of this study provide a foundation for further research, such as mutation modeling, molecular dynamics, and experimental validation.

How to Cite:

Prasetyo, N. A., Wijayanto, Y., Mas'udi, A. F., Novitasari, A., Nisa, A., Muhtadi, M. M., Utami, S. R., Pratama, A. W., Hermansyah, M., Pinasthika, S. J. (2026). Pemodelan Interaksi Protein GF14–XopQ secara *In-Silico* sebagai Pendekatan Bioinformatika untuk Mendukung Studi Ketahanan Padi terhadap *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo). *Plumula : Berkala Ilmiah Agroteknologi*, 14(1), 22-28. <https://doi.org/10.33005/plumula.v14i1.280>

***Author Correspondent:**

Email: nurandita@unej.ac.id

PENDAHULUAN

Hawar Hawar daun bakteri (*bacterial leaf blight*/BLB) yang disebabkan oleh *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo) merupakan salah satu penyakit paling merusak pada tanaman padi dan menyebabkan penurunan hasil signifikan terutama di negara penghasil beras Asia (Teja dkk., 2025). Patogen ini memanfaatkan sistem sekresi tipe III (T3SS) untuk memasukkan berbagai efektor ke dalam sel tanaman, di antaranya XopQ yang diketahui berperan dalam menekan respons imun tanaman melalui modulasi jalur sinyal pertahanan (Deb dkk., 2019).

Di sisi lain, protein GF14 merupakan bagian dari keluarga protein 14-3-3 yang berfungsi sebagai regulator sentral dalam berbagai proses fisiologis tanaman seperti metabolisme (Zhao dkk., 2021), respon stres (Huang dkk., 2022), perkembangan (Guo dkk., 2025), dan pertahanan terhadap patogen (Sheikh dkk., 2024). Protein 14-3-3 mengenali motif fosfo-serin/treonin pada targetnya melalui sebuah groove konservatif, dan interaksi ini menentukan kestabilan serta aktivitas targetnya (Barrera dkk., 2025). Sejumlah studi menunjukkan bahwa efektor patogen sering menargetkan protein 14-3-3 untuk mengganggu regulasi pertahanan tanaman (Tiwari & Lovelace, 2023).

Namun, hingga kini belum tersedia penjelasan struktural yang jelas apakah efektor XopQ berinteraksi langsung dengan GF14, bagaimana pola pengikatannya, serta bagaimana stabilitas kompleks yang terbentuk. Pertanyaan ini penting dijawab mengingat potensi interaksi tersebut dapat menjadi salah satu mekanisme patogen dalam melemahkan imunitas padi (Deb dkk., 2020).

Pendekatan bioinformatika memungkinkan eksplorasi awal secara in-silico tanpa memerlukan fasilitas laboratorium basah. *Docking* protein–protein menggunakan ClusPro mampu memprediksi orientasi kompleks berdasarkan energi potensial (Sotudian dkk., 2021), sedangkan PRODIGY dapat memperkirakan energi bebas ikatan (ΔG) yang berkaitan langsung dengan stabilitas kompleks (McKinnon dkk., 2025). Dengan mengombinasikan kedua pendekatan tersebut, penelitian ini bertujuan menghasilkan model prediktif yang komprehensif mengenai interaksi GF14–XopQ sebagai dasar pemahaman mekanisme ketahanan padi terhadap *X. oryzae*.

BAHAN DAN METODE

Preparasi Struktur Protein

Preparasi struktur protein dilakukan sebelum proses *docking* untuk memastikan bahwa kedua molekul berada dalam kondisi yang tepat untuk analisis interaksi. Pada penelitian ini, protein GF14 ditetapkan sebagai reseptor (Chain A), sedangkan XopQ digunakan sebagai ligan (Chain B). Struktur tiga dimensi kedua protein diperoleh dari *database* RCSB Protein Data Bank (PDB) (Burley dkk., 2023). Tahap pra-pemrosesan struktur dilakukan menggunakan perangkat lunak PyMOL, yang meliputi penghapusan molekul air dan ion yang tidak diperlukan, pembersihan ligan kecil atau kontaminan yang terdapat pada berkas struktur asli, serta pemotongan domain yang tidak relevan dengan area potensial interaksi. Selain itu, orientasi kedua protein diselaraskan untuk meminimalkan pergeseran struktural selama proses *docking*. Setelah seluruh tahapan preparasi selesai, masing-masing struktur disimpan dalam format file .pdb untuk digunakan dalam analisis *docking* selanjutnya.

Docking Menggunakan ClusPro

Docking dilakukan menggunakan ClusPro pada mode balanced (Desta dkk., 2020). ClusPro menghasilkan 30 cluster dengan parameter: jumlah anggota cluster, representative model, weighted energy score. Cluster terbaik dipilih berdasarkan kombinasi largest cluster size dan lowest weighted score. Ringkasan cluster teratas:

Tabel 1. Weighted Score 3 Cluster Teratas

Cluster	Members	Weighted Score
0	60	−707.8
1	55	−779.3
4	37	−746.9

Sumber: Data Diolah (2025)

Analisis Energi Ikatan Menggunakan PRODIGY

Setiap model hasil *docking* dari tiga *cluster* teratas kemudian dianalisis lebih lanjut menggunakan PRODIGY untuk mengevaluasi stabilitas interaksi protein (Goettig dkk., 2024). Analisis dilakukan dengan menghitung energi bebas ikatan (ΔG), nilai *dissociation constant* (K_d), serta karakteristik antarmuka yang meliputi jumlah dan jenis kontak antar-residu pada jarak $\leq 4,0$ Å. Parameter-parameter ini digunakan untuk menilai kekuatan dan relevansi biologis dari interaksi yang diprediksi. Model dengan nilai ΔG paling negatif dan K_d dalam kisaran nano-molar dianggap memiliki afinitas paling kuat dan kemungkinan besar mencerminkan interaksi yang terjadi secara *in vivo*. Pendekatan ini memungkinkan penilaian kuantitatif terhadap stabilitas kompleks protein–protein sekaligus memberikan dasar untuk menentukan model *docking* terbaik yang paling representatif secara struktural.

Visualisasi Struktur di PyMOL

Visualisasi struktural kemudian dilakukan menggunakan PyMOL untuk memetakan lokasi pengikatan XopQ pada GF14 (Jendele dkk., 2019), mengamati orientasi ligan terhadap *groove* konservatif GF14, menandai *hotspot* antarmuka yang berperan penting dalam stabilisasi kompleks (Barrera dkk., 2025), serta menilai kedalaman penetrasi ligan ke dalam permukaan pengikatan. Tahap visualisasi ini memberikan gambaran spasial yang lebih jelas mengenai mekanisme molekuler interaksi GF14–XopQ dan mendukung interpretasi hasil analisis energi ikatan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Bobot Isi Stabilitas Kompleks dari *Docking* & Energi Ikatan

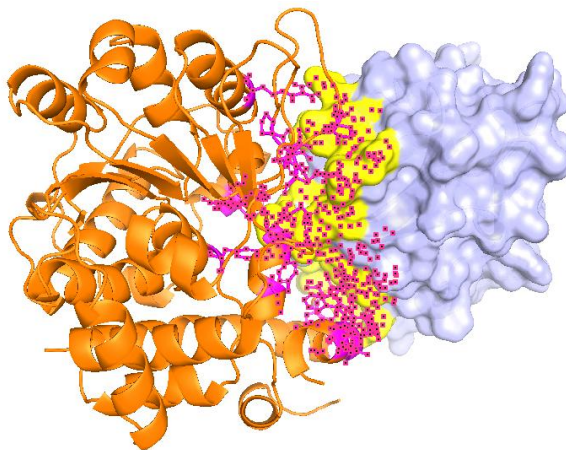
Hasil analisis menunjukkan bahwa meskipun *Cluster* 1 memiliki *weighted score* terendah (–779,3), validasi termodinamika menempatkan *Cluster* 4 sebagai model interaksi yang paling stabil dengan energi bebas ikatan (ΔG) sebesar –11,5 kcal/mol. Perbedaan peringkat ini mengindikasikan bahwa skor geometris pada algoritma *docking* tidak selalu mencerminkan afinitas pengikatan yang sebenarnya, sehingga parameter ΔG dan konstanta disosiasi (K_d) menjadi indikator yang lebih reliabel dalam menentukan stabilitas kompleks. Dengan nilai K_d sebesar $3,4 \times 10^{-9}$ M (skala nanomolar), *Cluster* 4 menunjukkan afinitas pengikatan yang sangat kuat, yang didukung oleh kepadatan kontak antarmuka paling tinggi di antara model lainnya.

Secara biologis, stabilitas yang sangat kuat pada *Cluster* 4 menunjukkan bahwa interaksi GF14–XopQ memiliki potensi besar untuk terjadi secara nyata di dalam sel padi (*in vivo*). Tingginya kontak antarmuka pada model ini memberikan dasar mekanistik bahwa efektor XopQ dapat berkompetisi dengan ligan alami untuk berikatan pada situs aktif GF14, sehingga berpotensi mengganggu jalur sinyal pertahanan tanaman. Hal ini diperkuat oleh penelitian sebelumnya bahwa bakteri *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo) menggunakan XopQ sebagai strategi molekuler untuk membajak protein regulator inang guna menekan imunitas padi, yang menjadi titik krusial dalam memahami patogenesis hawar daun bakteri (Deb dkk., 2019).

Tabel 2. Tabel Hasil *Docking* dan Energi Ikatan 3 *Cluster* Teratas

Parameter	<i>Cluster</i> 0	<i>Cluster</i> 1	<i>Cluster</i> 4
<i>Weighted Score</i>	–707.8	–779.3	–746.9
<i>Members</i>	60	55	37
ΔG (kcal/mol)	–7.4	–9.6	–11.5
K_d (M)	3.5×10^{-6}	9.2×10^{-8}	3.4×10^{-9}
Kontak Antarmuka	sedikit	sedang	paling tinggi
Stabilitas Biologis	rendah	sedang	sangat kuat

Sumber: Data Diolah (2025)



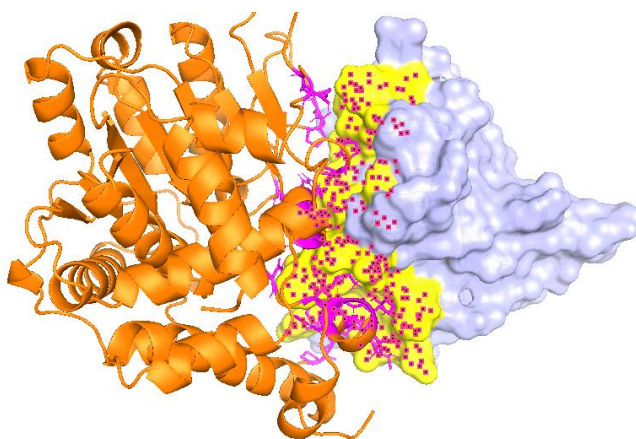
Gambar 1. Visualisasi kompleks GF14–XopQ untuk *Cluster 4* (model terbaik)

Karakteristik Antarmuka Interaksi

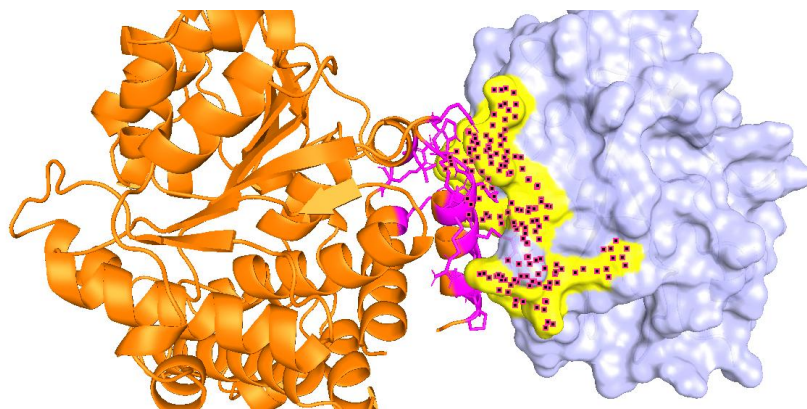
Gambar 1 menunjukkan model terbaik (*Cluster 4*) berdasarkan analisis PRODIGY. XopQ (*orange*) mengikat lebih dalam pada *groove* konservatif GF14 (*abu*) dan membentuk banyak kontak hidrofobik serta ikatan hidrogen yang konsisten dengan nilai ΔG paling negatif ($-11,5$ kcal/mol) dan afinitas paling tinggi. Model ini merupakan kandidat paling representatif sebagai interaksi biologis potensial GF14–XopQ. *Cluster 4* menunjukkan karakteristik:

- interaksi hidrofobik kuat (Leu, Val, Ile, Phe),
- ikatan hidrogen (Ser, Thr, Gln),
- interaksi elektrostatik (Asp, Glu, Lys),
- penetrasi ligan paling dalam pada *groove* GF14.

Gambar 2 menunjukkan interaksi GF14 (*abu*) dan XopQ (*orange*) pada model *Cluster 1*. XopQ menempati posisi pengikatan yang lebih dalam dibanding *Cluster 0* dan menunjukkan lebih banyak kontak antarmuka polar serta elektrostatik. Hal ini sejalan dengan nilai ΔG yang lebih rendah ($-9,6$ kcal/mol) dan *Kd* yang lebih kecil dibanding *Cluster 0*. Meskipun orientasinya cukup stabil, model ini masih belum seoptimal *Cluster 4*.



Gambar 2. Visualisasi kompleks GF14–XopQ untuk *Cluster 1*



Gambar 3. Visualisasi Kompleks GF14–XopQ untuk Cluster 0

Gambar 3 menunjukkan orientasi ikatan antara GF14 (abu) dan XopQ (*orange*) pada model *Cluster 0* hasil *docking* menggunakan ClusPro. Kompleks ini menampilkan jumlah kontak antarmuka yang relatif lebih sedikit dibanding dua *cluster* lainnya. Beberapa area interaksi berada di permukaan luar *groove* konservatif GF14, sehingga menghasilkan stabilitas ikatan yang lebih rendah ($\Delta G = -7,4$ kcal/mol). Model ini berfungsi sebagai pembandingan awal untuk memahami variasi orientasi pengikatan antar *cluster*.

Hasil menunjukkan bahwa XopQ memiliki kemungkinan kuat berinteraksi langsung dengan GF14. Penempatan XopQ pada *groove* konservatif GF14 yang merupakan situs pengikatan utama motif fosfoserin/treonin, menunjukkan bahwa XopQ dapat meniru atau mengganggu interaksi fisiologis GF14 (Deb dkk., 2019), sehingga berpotensi menekan respon imun tanaman. *Cluster 4* merupakan model terbaik berdasarkan:

- ΔG paling rendah,
- K_d paling kecil (nano-molar),
- jumlah kontak terbesar,
- posisi ligan paling tepat.

Temuan ini konsisten dengan strategi umum efektor bakteri yang menargetkan protein 14-3-3 untuk melemahkan ketahanan tanaman (Sheikh dkk., 2024; Tiwari & Lovelace, 2023; Zhao dkk., 2021).

Keterbatasan Studi

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan metodologis yang perlu diperhatikan dalam interpretasi hasil. Pertama, struktur protein GF14 dan XopQ yang digunakan berasal dari model yang tersedia pada RSCB PDB sehingga kemungkinan masih mengandung ketidakakuratan struktural dibandingkan struktur hasil kristalografi resolusi tinggi. Kedua, proses *docking* menggunakan ClusPro dilakukan dengan pendekatan *rigid-body* yang tidak sepenuhnya merepresentasikan fleksibilitas alami domain protein selama proses pengikatan. Selain itu, estimasi energi ikatan oleh PRODIGY belum mempertimbangkan dinamika lingkungan sel, termasuk fluktuasi termal, keberadaan kofaktor, serta efek pelarut yang dapat memengaruhi stabilitas kompleks. Oleh karena itu, hasil yang diperoleh perlu dipandang sebagai prediksi awal dan bukan representasi akhir dari perilaku biologis kompleks GF14–XopQ di dalam sel.

Rekomendasi Penelitian Lanjutan

Untuk menghasilkan pemahaman yang lebih komprehensif, beberapa pendekatan lanjutan dapat dilakukan pada penelitian berikutnya. Pertama, analisis mutasi *in-silico* pada residu *hotspot* yang diidentifikasi pada *Cluster 4* dapat membantu menilai kontribusi masing-masing residu terhadap stabilitas interaksi. Kedua, simulasi dinamika molekuler selama 100–200 ns dapat digunakan untuk mengevaluasi stabilitas kompleks GF14–XopQ dalam kondisi yang lebih menyerupai lingkungan seluler. Ketiga, analisis konservasi residu antar-varietas padi penting dilakukan untuk menentukan apakah situs interaksi bersifat konservatif dan relevan secara evolusioner. Terakhir, validasi eksperimental melalui pendekatan seperti *yeast two-hybrid* (Y2H), *pull-down assay*, atau *co-immunoprecipitation* (Co-IP) sangat diperlukan untuk memastikan bahwa interaksi yang diprediksi secara *in-silico* benar-benar terjadi secara *in vivo*.

SIMPULAN

Pemodelan interaksi protein GF14–XopQ melalui pendekatan *docking* menghasilkan 30 *cluster*, dan tiga model terbaik dipilih untuk dianalisis lebih lanjut berdasarkan ukuran *cluster* dan skor energinya. Validasi menggunakan PRODIGY menunjukkan bahwa *Cluster* 4 merupakan model paling stabil dengan energi bebas ikatan ΔG sebesar $-11,5$ kcal/mol, menandakan afinitas interaksi yang tinggi. Analisis antarmuka mengungkap bahwa interaksi terutama terjadi pada *groove* konservatif GF14 dan didominasi oleh kontak hidrofobik serta sejumlah ikatan hidrogen yang berkontribusi pada stabilitas kompleks. Hasil ini memberikan dasar struktural yang kuat bagi penelitian lanjutan mengenai mekanisme ketahanan padi terhadap *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo) dan membuka peluang untuk eksplorasi lebih lanjut melalui pemodelan mutasi, dinamika molekuler, atau validasi eksperimental.

DAFTAR PUSTAKA

- Barrera, E. E., Skrabana, R., & Bustos, D. M. (2025). Deciphering opening mechanisms of 14-3-3 proteins. *Protein Science*, 34(4). <https://doi.org/10.1002/pro.70108>
- Burley, S. K., Bhikadiya, C., Bi, C., Bittrich, S., Chao, H., Chen, L., Craig, P. A., Crichlow, G. V., Dalenberg, K., Duarte, J. M., Dutta, S., Fayazi, M., Feng, Z., Flatt, J. W., Ganesan, S., Ghosh, S., Goodsell, D. S., Green, R. K., Guranovic, V., ... Zardecki, C. (2023). RCSB Protein Data Bank (RCSB.org): delivery of experimentally-determined PDB structures alongside one million computed structure models of proteins from artificial intelligence/machine learning. *Nucleic Acids Research*, 51(D1), D488–D508. <https://doi.org/10.1093/nar/gkac1077>
- Deb, S., Ghosh, P., Patel, H. K., & Sonti, R. V. (2020). Interaction of the Xanthomonas effectors XopQ and XopX results in induction of rice immune responses. *The Plant Journal*, 104(2), 332–350. <https://doi.org/10.1111/tbj.14924>
- Deb, S., Gupta, M. K., Patel, H. K., & Sonti, R. V. (2019). Xanthomonas oryzae pv. oryzae XopQ protein suppresses rice immune responses through interaction with two 14-3-3 proteins but its phospho-null mutant induces rice immune responses and interacts with another 14-3-3 protein. *Molecular Plant Pathology*, 20(7), 976–989. <https://doi.org/10.1111/mpp.12807>
- Desta, I. T., Porter, K. A., Xia, B., Kozakov, D., & Vajda, S. (2020). Performance and Its Limits in Rigid Body Protein-Protein Docking. *Structure*, 28(9), 1071–1081.e3. <https://doi.org/10.1016/j.str.2020.06.006>
- Goettig, P., Chen, X., & Harris, J. M. (2024). Correlation of Experimental and Calculated Inhibition Constants of Protease Inhibitor Complexes. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(4), 2429. <https://doi.org/10.3390/ijms25042429>
- Guo, M., Wu, F., Ye, K., Jiang, C., An, Y., Chen, N., Huang, L., Lu, M., & Zhang, J. (2025). Analysis of the 14–3–3/GRF gene family reveals the role of PagGRF12a in leaf development in poplar. *Plant Science*, 359, 112661. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2025.112661>
- Huang, Y., Wang, W., Yu, H., Peng, J., Hu, Z., & Chen, L. (2022). The role of 14-3-3 proteins in plant growth and response to abiotic stress. *Plant Cell Reports*, 41(4), 833–852. <https://doi.org/10.1007/s00299-021-02803-4>
- Jendele, L., Krivak, R., Skoda, P., Novotny, M., & Hoksza, D. (2019). PrankWeb: a web server for ligand binding site prediction and visualization. *Nucleic Acids Research*, 47(W1), W345–W349. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz424>
- McKinnon, T. A. J., Liu, Y., Gong, F., Chion, A., Rothery, S., Zhang, X. F., & Mobayen, G. (2025). Significance of the amino acid at position 2561 in the C4 domain of von Willebrand factor. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 23(12), 3858–3870. <https://doi.org/10.1016/j.jtha.2025.08.023>
- Sheikh, A. H., Zacharia, I., Tabassum, N., Hirt, H., & Ntoukakis, V. (2024). 14-3-3 proteins as a major hub for plant immunity. *Trends in Plant Science*, 29(11), 1245–1253. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2024.06.001>

- Sotudian, S., Desta, I. T., Hashemi, N., Zarbafian, S., Kozakov, D., Vakili, P., Vajda, S., & Paschalidis, I. C. (2021). Improved cluster ranking in protein–protein docking using a regression approach. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 19, 2269–2278. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2021.04.028>
- Teja, B. S., Jamwal, G., Gupta, V., Verma, M., Sharma, A., Sharma, A., & Pandit, V. (2025). Biological control of bacterial leaf blight (BLB) in rice—A sustainable approach. *Heliyon*, 11(2), e41769. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2025.e41769>
- Tiwari, M., & Lovelace, A. H. (2023). Playing with FIRE: How an RXLR Oomycete Effector Fuels Disease by Hijacking 14-3-3 Proteins. *Molecular Plant-Microbe Interactions*®, 36(6), 313–314. <https://doi.org/10.1094/MPMI-05-23-0062-CM>
- Zhao, X., Li, F., & Li, K. (2021). The 14-3-3 proteins: regulators of plant metabolism and stress responses. *Plant Biology*, 23(4), 531–539. <https://doi.org/10.1111/plb.13268>