

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Penelitian

Karies gigi dan penyakit periodontal adalah masalah kesehatan gigi dan mulut yang paling sering terjadi di seluruh dunia, termasuk Indonesia.¹⁻⁵ Menurut *Global Burden of Disease Study* pada tahun 2016, karies pada gigi permanen adalah penyakit yang mempengaruhi 2,44 miliar orang. Karies pada gigi sulung adalah penyakit ke-17 yang paling umum di seluruh dunia.¹ Berdasarkan *The National Health and Nutrition Examination Survey* tahun 2011-2012 di Amerika Serikat, sekitar 37% anak (2-8 tahun) pernah mengalami karies pada gigi sulung dan 58% remaja (12-19 tahun) pernah mengalami karies pada gigi permanen.⁶ Menurut *Global Burden of Disease Study* pada tahun 2016, penyakit periodontal adalah penyakit ke-11 yang mempengaruhi 750.847 juta orang di seluruh dunia.¹ Sebuah studi di kota Mexico menunjukkan bahwa prevalensi gingivitis sebesar 39% pada anak prasekolah usia 4 sampai 5 tahun.⁷

Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2018 di Indonesia menunjukkan bahwa prevalensi karies pada anak masih tinggi dan hanya 9,9% anak usia 5 tahun yang bebas karies. Prevalensi karies pada anak usia 3-4 tahun sebesar 81,5%, usia 5-9 tahun sebesar 92,6%, dan usia 10-14 tahun sebesar 73,4%.^{5,8} Rerata indeks DMF-T gigi permanen pada anak usia 12 tahun adalah 1,9. Angka tersebut belum memenuhi target Indonesia Bebas Karies 2030 yaitu indeks DMF-T anak kelompok usia 12 tahun mencapai 1.⁸ Riskesdas tahun 2018 menunjukkan bahwa periodontitis

ditemukan pada remaja usia 15 tahun dengan prevalensi tinggi yaitu 60,2%.⁵ Karies dan penyakit periodontal yang tidak dirawat akan menyebabkan rasa nyeri, kehilangan gigi, mengganggu fungsi pengunyahan, status gizi menjadi buruk, percaya diri berkurang, kualitas hidup rendah, dan berdampak ke kesehatan umum, serta kematian.^{2,3}

Karies dan periodontitis adalah masalah gigi dan mulut yang disebabkan oleh bakteri.^{3,9,10} Karies gigi adalah penyakit kronis yang mengakibatkan demineralisasi jaringan keras gigi. Karies terjadi akibat perlekatan bakteri tertentu ke permukaan gigi melalui pembentukan biofilm yang dikenal sebagai plak gigi. Proses ini diikuti oleh metabolisme substrat menjadi asam organik yang menyebabkan demineralisasi email.^{3,11} Akumulasi plak di atas margin gingiva, interproksimal, pit, dan fisura gigi dapat menyebabkan karies.⁹ Periodontitis adalah penyakit inflamasi yang mengganggu integritas jaringan periodontal termasuk gingiva, ligamen periodontal, dan tulang alveolar. Periodontitis disebabkan oleh paparan terus menerus jaringan periodontal oleh plak gigi.³ Periodontitis berkembang sebagai akibat ketidakseimbangan atau disbiosis antara biofilm dan respon inflamasi imun *host*.²

Plak gigi adalah biofilm kompleks yang terbentuk pada lapisan permukaan gigi. Perkembangannya tergantung pada adhesi bakteri ke komponen saliva yang teradsorpsi pada permukaan gigi.¹² Biofilm dibentuk oleh akumulasi mikroba spesies tunggal atau polimikroba yang menempel satu sama lain dalam suatu matriks polimer ekstraseluler, menempel pada permukaan biotik atau abiotik, dan membentuk ekosistem cukup nutrisi sebagai komunitas mikroba yang sesil.^{13,14} Pembentukan biofilm diawali dengan pembentukan pelikel email. Pelikel email

adalah lapisan protein dengan komposisi dan sifat unik yang dibentuk oleh adsorpsi selektif berbagai protein yang berasal dari saliva ke permukaan email gigi. Pelikel saliva yang melapisi permukaan gigi memediasi perlekatan kolonisasi awal. Mayoritas kolonisasi awal adalah bakteri kokus dan batang anaerob fakultatif Gram-positif.¹⁵

Streptococcus sanguinis merupakan salah satu bakteri dalam rongga mulut manusia yang merupakan pionir dalam pembentukan biofilm^{12,16,17} dan merupakan bakteri pertama yang kontak dengan pelikel. Bakteri ini menyediakan nutrisi untuk bakteri baru disekitarnya.^{9,18} Koloni *Streptococcus sanguinis* dapat membentuk sebuah lingkungan baru untuk lokalisasi mikroorganisme lain, sehingga terjadi patogenesis.¹⁶ Bakteri ini dapat menempel pada permukaan gigi dan epitel mulut melalui komponen protein dinding selnya, yaitu *adhesin*. Bakteri ini akan menempel pada permukaan hidroksiapatit (HA), komponen utama email gigi. Perlekatan terjadi melalui interaksi dengan glikoprotein saliva pada pelikel yang akan memfasilitasi bakteri Gram-positif lain seperti *Actinomyces* dengan bakteri Gram-negatif seperti *Veillonella*, *Fusobacterium nucleatum* dan *Porphyromonas gingivalis*.¹⁸

Streptococcus sanguinis adalah bakteri penyebab endokarditis infektif (EI). Bakteri ini dapat ditemukan di mukosa bukal dan memiliki kemampuan untuk agregasi trombosit yang mungkin menjadi predisposisi EI.¹⁸ *Streptococcus sanguinis* juga dapat berkontribusi pada pembentukan plak aterosklerotik. Hal ini diperjelas oleh sebuah penelitian yang menunjukkan sampel plak aterosklerotik manusia yang mengandung *Streptococcus sanguinis*.¹⁹ Insidensi endokarditis

infeksi 0,43 per 100.000 anak dicatat pada penelitian Gupta et al.²⁰ Insidensi endokarditis infeksi pada populasi anak lebih rendah dibanding orang dewasa yaitu 15 per 100.000 populasi.

Streptococcus sanguinis merupakan bakteri Gram-positif, fakultatif anaerob.^{3,18} Dinding sel bakteri Gram-positif merupakan susunan makromolekul kompleks yang terdiri oleh lapisan peptidoglikan yang tebal untuk mempertahankan kekuatan dan kekakuan sel, melindungi bakteri dari tekanan osmotik internal, dan mempertahankan bentuk bakteri.²¹⁻²³ Peptidoglikan tidak hanya ditemukan pada bakteri Gram-positif, tetapi juga bakteri Gram-negatif. Peptidoglikan terdiri dari banyak gula amino dan rantai polipeptida pendek yang menghubungkannya.²¹

Muramidase (MurA-F) merupakan enzim yang berkontribusi pada biosintesis peptidoglikan. *Muramidase A* mengkatalisis tahap awal pembentukan peptidoglikan. *Enol pyruvate* dalam *phosphoenolpyruvate* (PEP) ditransfer ke *UDP-N-acetylglucosamine (UNAG)* dan melepaskan fosfat merupakan langkah pertama biosintesis peptidoglikan. Menghalangi kerja enzim *muramidase A* akan menyebabkan dinding sel bakteri terganggu dan akhirnya bakteri akan mati. Hal ini membuat enzim *muramidase A* menjadi target yang menjanjikan untuk agen antimikroba.²¹

Streptococcus sanguinis memiliki dua gen *glucosyltransferase (gtf)*, yaitu *glucosyltransferase A* dan *glucosyltransferase P*. *Glucosyltransferase P (gtfP)* adalah satu-satunya gen pada *Streptococcus sanguinis* yang menghasilkan glukon. *Glucosyltransferase P* telah dilaporkan membantu *Streptococcus sanguinis* untuk melekat pada lapisan hidroksiapatit yang dilapisi saliva dan untuk meningkatkan

pembentukan biofilm. Gangguan pada proses transkripsi *glucosyltransferase P* menurunkan produksi glukon yang larut dan tidak larut air sehingga dapat menjadi target dalam pengembangan obat antibakteri.^{3,22}

Kontrol plak merupakan salah satu strategi utama pencegahan karies dan penyakit periodontal. Pembentukan plak dapat dihambat melalui adhesi, proliferasi, dan agregasi bakteri baik secara mekanis, kimiawi, ataupun keduanya. Kontrol plak dengan mekanis membutuhkan motivasi yang tinggi baik dilakukan di rumah atau di klinik. Beberapa bahan kimia telah diuji kemampuannya untuk mengurangi akumulasi plak.^{9,24-26}

Obat kumur antimikroba juga telah disarankan sebagai tambahan untuk metode kontrol plak secara mekanis. Agen antiplak yang umum digunakan adalah klorheksidin glukonat yang merupakan *gold standar* dalam praktik kedokteran gigi.^{16,21,27,28} Klorheksidin adalah *bis-biguanide* dengan efek bakteristatik dan bakterisidal yang efektif pada bakteri Gram-positif dan Gram-negatif, jamur, dan beberapa virus lipofilik.^{25,26} Penggunaan klorheksidin memiliki beberapa kelemahan potensial seperti perubahan sensasi rasa, pewarnaan gigi, iritasi mukosa, dan perkembangan resistensi bakteri yang mengganggu penerapannya dalam jangka panjang.^{9,27,29}

Pengembangan beberapa strategi inovatif untuk menghambat pembentukan plak penyebab karies gigi dan penyakit periodontal sangat dibutuhkan. Salah satu strategi adalah mengeksplor bahan alam yang tersedia secara melimpah dan mudah didapatkan. Senyawa aktif pada tanaman herbal memiliki banyak manfaat untuk kesehatan dengan efek samping minimal dan efisiensi maksimum. Obat dari

tanaman atau yang dikenal fitofarmaka relatif lebih murah dibanding obat-obat kimiawi. Tanaman herbal dan produk alami lain adalah sumber agen antibakteri baru yang harus dieksplorasi.^{9,27,29}

Buah merah (*Pandanus conoideus Lam.*) merupakan tanaman asli dari Papua, Indonesia. Buah merah secara sporadis mulai ditanam di beberapa daerah seperti Maluku, Sulawesi, Kalimantan, Jawa, dan Sumatera. Masyarakat lokal biasanya mengonsumsi langsung sebagai bahan makanan atau menggunakan minyaknya untuk pengobatan beberapa penyakit degeneratif, seperti stroke, HIV, kanker, *rheumatoid arthritis*, kolesterol, dan diabetes melitus.^{9,30-34} Buah merah (*Pandanus conoideus Lam.*) memiliki efek antioksidan, antitumor, imunomodulator, antiparasitik, dan anti-HIV.³¹ Minyak buah merah (*Pandanus conoideus Lam.*) juga telah digunakan sebagai kandungan utama dalam pembuatan sabun tangan.^{35,36}

Buah merah (*Pandanus conoideus Lam.*) memiliki potensi sebagai sumber agen antibakteri.^{9,10,30} Ekstrak etil asetat buah merah (*Pandanus conoideus Lam.*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. faecalis*, *Streptococcus mutans* dan *Streptococcus sanguinis*.⁹ Buah merah (*Pandanus conoideus Lam.*) efektif terhadap *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, dan *Microsporium gypseum*.³⁰ Studi lain juga menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat buah merah dapat menghambat pertumbuhan *Candida albicans* dengan KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) 1,5%.³³

Buah merah (*Pandanus conoideus Lam.*) mengandung beberapa golongan senyawa metabolit sekunder.^{9,10,30,31} Analisis fitokimia pada buah merah (*Pandanus conoideus Lam.*) menunjukkan bahwa buah merah mengandung golongan

metabolit sekunder, seperti fenolik, flavonoid, steroid, triterpenoid, saponin, tanin, dan alkaloid yang didistribusikan ke dalam ekstrak yang berbeda.⁹ Studi yang dilakukan oleh Rohman et al³⁷ menunjukkan bahwa kandungan flavonoid tertinggi buah merah terdapat pada ekstrak etil asetat, yaitu 825.14 ± 25.92 . Penelitian yang dilakukan oleh Damayanti et al⁹ menunjukkan golongan senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan adalah flavonoid pada fraksi etil asetat dan metanol. Informasi tentang senyawa golongan flavonoid pada buah merah (*Pandanus conoideus Lam.*) sebagai senyawa antibakteri terhadap bakteri patogen rongga mulut belum dilaporkan pada penelitian.⁹ Obat herbal mengandung banyak kandungan kimia dan tidak diketahui atau tidak dapat dipastikan zat aktif yang berperan dalam menimbulkan efek terapi atau menimbulkan efek samping.³⁸ Flavonoid selain memiliki aktivitas antioksidan, antiinflamasi, antikanker, dan proteksi kardiovaskular juga terbukti memiliki aktivitas antibakteri.³⁹⁻⁴²

Studi yang dilakukan oleh Gutierrez-Venegas et al⁴⁰ menunjukkan bahwa flavonoid memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri Gram-positif dan Gram-negatif dalam rongga mulut. Studi *in vitro* yang dilakukan oleh Herdiyati et al mengatakan bahwa ekstrak etil asetat buah merah (*Pandanus conoideus Lam.*) yang mengandung senyawa antibakteri flavonoid aktif terhadap bakteri *Enterococcus faecalis* dengan senyawa aktif yaitu *Quercetin 3-O-glucose*.¹⁰ Senyawa golongan flavonoid yang telah diisolasi dari buah merah (*Pandanus conoideus Lam.*), yaitu *quercetin*, *taxifolin*, *quercetin 3 glucoside*, *3,4',5-trihydroxy-7,3'-dimethoxyflavon*, *4',6,6',8-tetrahydroxy-3-methoxy-flavon*, *taxifolin 3-O- α -arabinopyranose*, *quercetin 3-O-glucose*, dan *quercetin 3 methyl ether*.^{32,43} Senyawa aktif golongan

flavonoid pada buah merah yang telah diteliti memiliki aktivitas antibakteri adalah *quercetin* dan *quercetin 3-methyl-ether*.^{10,40}

Belum terdapat penelitian yang menggambarkan dan menganalisis komposisi antibakteri yang terkandung di dalam buah merah (*Pandanus conoideus Lam.*) secara lebih mendalam melalui penelitian *molecular docking* secara *in silico* dalam mengeksplorasi manfaat buah merah terhadap *Streptococcus sanguinis*. Penelitian *molecular docking* secara *in silico* berguna dalam memprediksi interaksi dan afinitas ikatan (*binding affinity*), konstanta inhibisi (Ki), serta konformasi dari kompleks senyawa protein-ligan.^{44,45} Penelitian secara *in silico* banyak digunakan pada penelitian awal dalam penemuan senyawa antikanker, antivirus, antibiotik, dan senyawa bioaktif yang dapat digunakan sebagai kandidat obat.⁴⁶

Metode studi *in silico* ini memiliki banyak keuntungan diantaranya yaitu mengurangi jumlah hewan coba yang digunakan dan dibutuhkan pada saat percobaan serta dapat mengetahui mekanisme senyawa kandidat obat terhadap targetnya dalam bentuk visualisasi. Metode ini dapat membantu memilih molekul yang lebih baik sebelum dilakukan pengujian secara *in vitro* atau kondisi *in vivo*.⁴⁶ Metode *in silico* lebih mudah, murah, dan cepat dibandingkan studi *in vitro* dan *in vivo*. Kekurangannya adalah tidak dapat mengetahui KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) suatu senyawa terhadap bakteri sehingga membutuhkan penelitian lebih lanjut.^{47,48} Metode *in silico* merupakan komplemen metode *in vitro* dan *in vivo* yang lazim digunakan dalam penemuan obat.⁴⁹

Senyawa golongan flavonoid yang telah diisolasi dari buah merah (*Pandanus conoideus Lam.*) dapat dijadikan sebagai rujukan dalam pencarian dan pengembangan obat antibakteri menggunakan *molecular docking* secara *in silico*. Studi dilakukan untuk menganalisis mekanisme molekuler prospektif senyawa aktif baru pada kandidat obat yang selektif, spesifik, dan efektif untuk reseptor penyakit target.¹⁶

Berdasarkan latar belakang penelitian, maka peneliti tertarik untuk meneliti aktivitas antibakteri senyawa flavonoid buah merah (*Pandanus conoideus Lam.*) terhadap enzim *muramidase A* dan *glucosyltransferase P* pada *Streptococcus sanguinis* melalui perangkat lunak dari komputer (*in silico*).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang masalah yang dikemukakan, maka dapat dirumuskan masalah sebagai berikut:

1. Apakah terdapat aktivitas antibakteri yang terbentuk antara senyawa flavonoid buah merah (*Pandanus conoideus Lam.*) terhadap enzim *muramidase A* pada *Streptococcus sanguinis* secara *in silico*?
2. Apakah terdapat aktivitas antibakteri yang terbentuk antara senyawa flavonoid buah merah (*Pandanus conoideus Lam.*) terhadap *glucosyltransferase P* pada *Streptococcus sanguinis* secara *in silico*?
3. Senyawa flavonoid buah merah (*Pandanus conoideus Lam.*) apa yang paling baik dalam menghambat enzim *muramidase A* dan *glucosyltransferase P*?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian adalah:

1. Untuk menganalisis aktivitas antibakteri yang terbentuk antara senyawa flavonoid buah merah (*Pandanus conoideus Lam.*) terhadap enzim *muramidase A* pada *Streptococcus sanguinis* secara *in silico*.
2. Untuk menganalisis aktivitas antibakteri yang terbentuk antara senyawa flavonoid buah merah (*Pandanus conoideus Lam.*) terhadap *glucosyltransferase P* pada *Streptococcus sanguinis* secara *in silico*.
3. Untuk menganalisis senyawa flavonoid yang paling baik dalam menghambat enzim *muramidase A* dan *glucosyltransferase P*.

1.4 Kegunaan Penelitian

1.4.1 Aspek Teoritis

Penulisan penelitian diharapkan dapat menambah ilmu pengetahuan dan memberikan informasi ilmiah bahwa dengan metode *in silico* dapat mengetahui senyawa flavonoid buah merah (*Pandanus conoideus Lam.*) sebagai antibakteri terhadap enzim *muramidase A* dan *glucosyltransferase P* pada *Streptococcus sanguinis* yang bertujuan untuk menemukan senyawa aktif yang diharapkan berperan dalam eksplorasi obat herbal.

1.4.2 Aspek Praktis

Hasil penelitian diharapkan dapat bermanfaat dalam pengembangan ilmu pengetahuan khususnya membantu praktisi dalam memanfaatkan buah merah

(Pandanus conoideus Lam.) sebagai bahan alternatif obat kumur rongga mulut yang memiliki efek samping lebih rendah dan menunda perkembangan resistensi bakteri penyebab karies dan penyakit periodontal, serta menjadi acuan penelitian lebih lanjut dalam bidang kedokteran gigi.