

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Penelitian

Karies gigi merupakan penyakit kronis pada anak yang menyebabkan demineralisasi dan kerusakan struktur gigi. Menurut Riskesdas pada tahun 2018, prevalensi karies pada anak Indonesia dalam usia 3-4 tahun sebesar 81,1%, usia 5-9 tahun sebesar 92,6%, dan usia 10-14 tahun sebesar 73,4%. Target Indonesia Bebas Karies pada 2030 adalah indeks DMF-T anak kelompok umur 12 tahun mencapai 1. Rerata indeks DMF-T gigi permanen di Indonesia pada tahun 2018 adalah 7,1 sedangkan untuk kelompok umur 12 tahun adalah 1,9. Angka ini masih belum memenuhi target pelayanan Kesehatan gigi dan mulut pada tahun 2020 yaitu indeks DMF-T 1,26 pada kelompok umur 12 tahun.¹

Berbagai faktor mempengaruhi permulaan dan perkembangan penyakit. Karies diketahui membutuhkan *host*, substrat makanan, dan bakteri *aciduric*. Saliva, substrat, dan bakteri membentuk biofilm yang menempel pada permukaan gigi. Keberadaan substrat berfungsi sebagai nutrisi bagi bakteri. Proses ini menyebabkan pembentukan asam oleh bakteri dan demineralisasi substansi gigi.

Streptococcus mutans merupakan sekelompok spesies bakteri yang dicirikan oleh kemampuannya untuk menghasilkan glukukan ekstraseluler dari sukrosa dan produksi asam pada hewan dan penelitian manusia. Dua spesies yang bertanggung jawab untuk inisiasi karies gigi pada manusia adalah *S. mutans* dan *Streptococcus sobrinus*. Menurut Hong, menemukan bahwa frekuensi *S. mutans* berhubungan positif dengan keberadaan karies gigi dan penentuan tingkat saliva *S. mutans* dapat digunakan untuk prediksi karies pada masa anak.²

Habitat alami *S. mutans* adalah pada rongga mulut manusia, khususnya di biofilm gigi. Biofilm multispesies yang terbentuk pada permukaan keras gigi. Potensi kariogenik *S. mutans*

terjadi akibat kemampuan untuk mensintesis sejumlah besar polimer ekstraseluler glukosa dari sukrosa yang membantu dalam pembentukan biofilm pada permukaan keras dan dalam pengembangan dari matriks polimer ekstraseluler in situ, kemampuan untuk mengangkut dan memetabolisme berbagai karbohidrat menjadi asam organik dan kemampuan untuk berkembang dalam kondisi stres lingkungan, khususnya pH rendah (*aciduricity*).³

Berdasarkan karakteristik ini, *S. mutans* dianggap sebagai kontributor penting dalam pembentukan biofilm kariogenik dengan menghasilkan glukosa dalam jumlah besar sebagai matriks polisakarida ekstraseluler (EPS) dari sukrosa melalui glukosiltransferase (Gtfs) seperti GtfB, GtfC, dan GtfD. GtfB mensintesis glukosa yang tidak larut dalam air, GtfD mensintesis glukosa yang larut dalam air. GtfC mensintesis glukosa larut dan tidak larut. Gtfs merupakan faktor virulensi *S. mutans* untuk membentuk biofilm.⁴

Pembentukan biofilm dalam perawatan kesehatan merupakan masalah yang perlu diperhatikan secara khusus karena menghasilkan peningkatan morbiditas dan mortalitas serta menimbulkan beban finansial pada sistem perawatan kesehatan.⁵ Dental plak merupakan biofilm mikroba kompleks yang tertanam dalam matriks ekstraseluler dan dikenal sebagai etiologi utama karies.⁶ Biofilm mikroba adalah komunitas bakteri kompleks dan umum dalam tubuh manusia dan lingkungan. Dalam beberapa tahun terakhir dental plak diidentifikasi sebagai biofilm. Sifat biofilm adalah meningkatkan ketahanan komponen bakteri terhadap sistem pertahanan inang dan antimikroba. Jika biofilm tidak dihilangkan secara teratur, biofilm akan mengalami pematangan dan kompleks bakteri patogen yang dihasilkan dapat menyebabkan karies, gingivitis dan periodontitis.⁷ Biofilm *S. mutans* dan produksi asam oleh bakteri ini mendorong pelarutan mineral enamel dan dentin serta kerusakan komponen organik gigi.⁸ Satu-satunya perawatan yang tersedia untuk karies gigi adalah restorasi struktur gigi yang hilang dengan bahan restorasi sintetis.⁹ Biofilm adalah struktur kompleks yang terdiri dari

kumpulan sel mikroorganisme khususnya bakteri yang melekat di suatu permukaan dan diselimuti oleh matriks polimer ekstraseluler yang dikeluarkan oleh bakteri.¹⁰

Penelitian menunjukkan bahwa *S. mutans* memiliki kemampuan yang lebih besar untuk membentuk biofilm dibandingkan dengan spesies *Streptococcus* lainnya yang berkoloni di lingkungan rongga mulut manusia.¹¹ Studi difokuskan pada sel yang membentuk biofilm dan membuktikan bahwa *S. mutans* menunjukkan ekspresi yang berbeda dari beberapa protein dibandingkan dengan kultur planktonik dalam hal peningkatan ekspresi exopolyphosphatase dan penurunan laktat dehidrogenase atau ekspresi piruvat kinase. Kontrol biofilm secara mekanis dilakukan dengan menyikat gigi menggunakan pasta gigi, akan tetapi pada anak kemampuan motorik halus nya masih belum baik sehingga dibantu dengan penggunaan obat kumur untuk memusnahkan biofilm secara kimiawi. Akumulasi biofilm dapat dicegah, upaya tersebut dapat dilakukan secara mekanis maupun kimiawi. Kontrol biofilm secara mekanis juga membutuhkan penambahan agen kontrol plak secara kimiawi.

S. mutans merupakan bakteri gram positif yang menjadi penyebab utama karies. Dinding sel bakteri Gram positif tersusun oleh makromolekul yang kompleks. Makromolekul dari dinding sel bakteri terdiri atas peptidoglikan menyerupai kantung yang mengelilingi membran sitoplasma dan terkandung glikopolimer lainnya seperti asam teikoik atau polisakarida dan protein. Peptidoglikan merupakan komponen utama dari dinding sel bakteri Gram positif.¹²

Peptidoglikan terdiri dari rantai glikan yang terbentuk dari *N-acetylglucosamine* (GlcNac) dan *N-acetylmuramic acid* (MurNac) dengan berbagai macam asam amino yang melekat.¹²

Pembentukan biofilm dapat dihambat dengan mengurangi perlekatan, proliferasi dan agregasi bakteri, dapat dengan cara mekanis, kimiawi, dan atau kombinasi keduanya.¹⁴ Penghambatan biofilm dengan menggunakan cara kimiawi dapat dijadikan tindakan tambahan yang diperlukan untuk mengontrol biofilm. Salah satu cara adalah dengan mengganggu dinding sel bakteri dengan menghambat biosintesis peptidoglikan. Banyak enzim yang berkontribusi

pada biosintesis peptidoglikan termasuk *Muramidase A (UDP-N-acetylglucosamine enolpyruvyl transferase)*.^{15,137}

Pemblokiran melalui aksi enzim MurA, dinding sel bakteri akan menjadi terganggu sehingga mengakibatkan bakteri akan mati secara otomatis. Enzim MurA berperan penting dalam biosintesis peptidoglikan dari dinding sel bakteri sehingga dapat menjadi target yang menarik untuk pengembangan obat antibakteri.¹⁶

Agen antibakteri telah lama dimasukkan ke dalam formulasi bahan obat kumur dan pasta gigi untuk mencegah pembentukan biofilm pada permukaan gigi dan mencegah karies gigi. *Chlorhexidine* adalah salah satu di antara agen antibakteri yang paling umum digunakan.¹⁷

Chlorhexidine telah lama dikenal sebagai agen utama untuk pengendalian plak kimiawi. *Chlorhexidine* sampai saat ini adalah agen antiplak paling efektif yang terbukti. Khasiatnya sebagai obat kumur untuk menghambat timbulnya plak gigi. *Chlorhexidine* dianggap sebagai agen antimikroba *gold standart* terhadap efektivitas agen antimikroba dan antiplak lainnya.¹⁸

Terlepas dari sifat antimikrobia dan antiplak yang kuat dari *chlorhexidine*, penggunaannya yang meluas dan berkepanjangan dibatasi oleh efek samping lokal. Efek merugikan lokal utama dari *chlorhexidine* saat digunakan sebagai obat kumur adalah pewarnaan ekstrinsik gigi. Noda kuning tua atau coklat sering terlihat pada gigi asli dan tiruan setelah digunakan beberapa hari. Jumlah pewarnaan mungkin menunjukkan variasi individu yang lebih besar dan cenderung lebih parah dengan konsentrasi obat yang lebih tinggi.¹⁹

Penelitian Khan dan Hasan menyebutkan bahwa penggunaan senyawa sintesis seperti *chlorhexidine* memiliki efek mutagenik pada mulut. Alternatif obat kumur untuk menggantikan *chlorhexidine* adalah bahan yang memiliki daya antibakteri tanpa efek samping.²⁰ Penggunaan obat tradisional pada saat ini lebih diminati oleh masyarakat. Hal ini disebabkan masyarakat yang lebih memilih sehat dengan biaya yang relatif murah dan aman. Selain itu efek samping

dari obat tradisional ini diyakini lebih kecil dan bahkan tidak ada jika dibandingkan dengan penggunaan bahan kimia.

Peningkatan resistensi bakteri terhadap bahan medikasi sintetis mendorong para ilmuwan untuk meneliti berbagai bahan herbal yang memiliki efek antibakteri, toksisitas rendah, biokompatibilitas tinggi dan mudah diperoleh, salah satunya adalah kemangi (*Ocimum americanum*).²¹

O. americanum, juga dikenal sebagai *Ocimum*, berasal dari keluarga *Lamiaceae* (*Labiatae*). Keluarga *Lamiaceae* (*Labiatae*) adalah salah satu keluarga yang memiliki keanekaragaman jenis. Diketahui bahwa famili *Lamiaceae* terdiri dari 236 marga dengan jumlah spesies sebanyak 6.900–7.200 spesies. Genus *Ocimum* tersebar di banyak benua Asia, Afrika, Amerika Tengah, dan Selatan. Genus *Ocimum* L. (*Lamiaceae*) terdiri lebih dari 30 spesies yang tersebar di daerah tropis dan subtropis.²²

O. americanum telah digunakan sebagai insektisida untuk perlindungan terhadap kerusakan akibat serangga pasca panen terutama yang disebabkan oleh kumbang bruchid. Investigasi etnobotani di wilayah tengah Burkina Faso menunjukkan bahwa tanaman ini sering digunakan dalam pengobatan tradisional untuk mengobati berbagai macam penyakit seperti malaria, demam, nyeri, stomatitis, asmatik, bronkitis, hidung tersumbat dan juga memiliki aktivitas antibakteri. Analisis fitokimia dari batang berdaun tanaman terutama mengungkapkan adanya senyawa saponosida, steroid dan polifenol.²³

Masyarakat Indonesia telah memanfaatkan daun kemangi untuk mengatasi bayi kejang, timbulnya nafsu makan, sariawan, demam, dan mual.²² Banyak penelitian yang membuktikan bahwa tanaman obat dengan kandungan antioksidan yang tinggi dapat efektif dalam pencegahan pembentukan radikal bebas, sehingga berperan penting dalam pencegahan penyakit. Senyawa bioaktif yang ditemukan dalam tanaman obat termasuk dalam berbagai

kelas kimia termasuk terpena, alkaloid, kumarin, senyawa fenolik. Beberapa senyawa ini memiliki aktivitas anti kanker, antioksidan dan antimikroba.²⁴

Mekanisme yang terlibat dalam aktivitas antimikroba pada bahan alam adalah ekstrak tumbuhan masuk melalui membran sel bakteri gram positif dan gram negatif. Skrining senyawa bioaktif sebelumnya telah dilakukan pada *O. americanum*.²⁵ Namun, belum ada penelitian yang dilakukan pada aktivitas antioksidan dan antibakteri dari fraksi senyawa kaya fenolik diklorometana dan etil asetat serta antimikroba saja dan dalam kombinasi dengan antibiotik referensi.

Kebutuhan untuk menemukan senyawa antimikroba baru terjadi karena peningkatan kejadian penyakit menular baru yang muncul kembali serta resistensi terhadap antibiotik saat ini. Penelitian serupa dilakukan oleh Thaweboon yang telah menguji aktivitas antimikroba minyak atsiri *O. americanum L.* terhadap bakteri patogen yang terdapat dalam mulut. Hasilnya menunjukkan bahwa minyak atsiri ini memiliki aktivitas antimikroba terhadap *S. mutans*, *Lactobacillus casei*, dan *Candida albicans*. *O. americanum* menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *S. mutans* dengan zona hambat 28 mm.²⁶

Ekstrak dari *O. americanum* menghilangkan aktivitas bakterisidal dan menunjukkan aktivitas antibakteri yang baik dibandingkan dengan antibiotik seperti gentamisin. Trepenoid, Polifenol, seperti tanin dan flavonoid terkenal memiliki aktivitas antibakteri.²⁸ Temuan lain juga menunjukkan bahwa fenol dan flavonoid sangat berkontribusi pada aktivitas antioksidan dan aktivitas antimikroba.²⁹

Menurut penelitian Vijoch dkk, senyawa neral yang merupakan turunan dari terpenoid mempunyai presentase sebesar 27,2%. Antibakteri kemangi dilaporkan efektif terhadap bakteri gram positif daripada gram negatif.³⁰

Seiring dengan perkembangan zaman, pengembangan penelitian di bidang obat- obatan dan kosmetik mulai membatasi penggunaan hewan uji dikarenakan memakan waktu dan biaya

yang besar serta adanya kode etik terhadap penggunaan hewan uji, oleh karena itu diperlukan suatu metode lain yang memiliki biaya terjangkau serta menampilkan hasil yang cepat. *In silico* mulai dilirik karena kelebihanannya yang murah dan hasilnya lebih cepat. *In silico* adalah metode riset yang memanfaatkan teknologi komputasi dan database untuk mengembangkan penelitian lebih lanjut.³¹ Metode *in silico* saat ini yang paling populer digunakan adalah *molecular docking*.

Dalam ilmu biologi molekuler dan bioinformatika, *docking* merupakan salah satu metode yang dapat memprediksi interaksi antar molekul, dapat berupa protein termasuk enzim, DNA, karbohidrat, lemak terhadap substrat, tetapi lebih banyak yang mengeksplorasi terhadap enzim.³² Hasil yang diharapkan adalah dapat memprediksi interaksi yang stabil dan bersifat spontan, dapat dilihat melalui derajat energi bebas yang semakin negatif.³³ Saat ini *docking* sudah digunakan dalam mendesain obat-obatan maupun antiviral, dan digunakan sebagai tahap seleksi awal dari banyak substrat sehingga pada saat percobaan pada laboratorium basah akan semakin mudah karena jumlah sampel uji semakin sedikit, walaupun dapat terjadi ketidaksesuaian antara hasil bioinformatika dengan laboratorium basah (*false positive* atau *false negatif*).³⁴ *Docking* dapat diumpamakan sebagai proses gembok dan kunci pada interaksi enzim dan substrat. Kunci akan masuk pada lubang di gembok, dan mengubah konformasi (bentuk) gembok (terbuka atau tertutup). Dalam pengertian ini, gembok merupakan enzim dan kunci merupakan substrat.³⁵ Penelitian yang menggambarkan dan menganalisa komposisi antibakteri yang terkandung didalam *O. americanum* secara lebih mendalam melalui penelitian *molecular docking* dalam mengeksplorasi manfaat *O. americanum* masih sangat terbatas. Metode komputasi (*in silico*) melalui *molecular docking* berguna dalam memprediksi interaksi dan afinitas ikatan serta konformasi dari kompleks senyawa protein-ligan.³⁶

Berdasarkan latar belakang diatas peneliti tertarik untuk meneliti dengan penggunaan *molecular docking* untuk mengetahui interaksi senyawa aktif neral ekstrak *O. americanum* terhadap enzim *muramidase A* dan *glucocyltransferase B* yang berperan dalam pembentukan biofilm *S. mutans* 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 interaksi yang terbentuk antara senyawa neral daun *O. americanum* terhadap enzim *muramidase A* pada *S. mutans* dengan metode *in silico*?
2. Apakah terdapat interaksi yang terbentuk antara senyawa neral dari daun *O. americanum* terhadap enzim *Glucocyltransferase B* pada *S. mutans* dengan metode *in silico*?
3. Apakah terdapat perbedaan aktivitas interaksi antara senyawa neral dari daun *O. americanum* terhadap enzim *muramidase A* dan *Glucocyltransferase B* pada *S. mutans* dengan metode *in silico*?
4. Protein manakah yang lebih baik dihambat oleh senyawa neral dari daun *O. americanum* antara enzim *muramidase A* dan *Glucocyltransferase B* pada *S. mutans* dengan metode *in silico*?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian adalah:

1. Menganalisis interaksi yang terbentuk antara senyawa neral dari daun *O. americanum* terhadap enzim *muramidase A* pada *S. mutans* dengan metode *in silico*
2. Menganalisis interaksi yang terbentuk antara senyawa neral dari daun *O. americanum* terhadap enzim *Glucocyltransferase B* pada *S. mutans* dengan metode *in silico*

3. Menganalisis terdapat perbedaan aktivitas antara senyawa neral dari daun *O. americanum* terhadap enzim *muramidase A* dan *Glucocyltransferase B* pada *S. mutans* dengan metode *in silico*
4. Menganalisis protein mana yang lebih baik dihambat oleh senyawa neral dari daun *O. americanum* antara enzim *muramidase A* dan *Glucocyltransferase B* pada *S. mutans* dengan metode *in silico*

1.4 Kegunaan Penelitian

Penelitian diharapkan berguna dari aspek teoritis maupun praktis.

1.4.1 Aspek Teoritis

Aspek teoritis dari penelitian adalah:

1. Penulisan penelitian ini diharapkan dapat menambah ilmu pengetahuan dan memberikan informasi ilmiah bahwa dengan metode *in silico* dapat mengetahui interaksi senyawa neral yang terkandung dalam daun kemangi dengan target enzim *muramidase A* dan *Glucocyltransferase B* yang bertujuan untuk menemukan senyawa aktif yang diharapkan dapat berperan dalam eksplorasi obat.
2. Penulisan penelitian ini diharapkan menjadi dasar ilmiah mengenai penggunaan metode *in silico* dalam menilai interaksi senyawa neral yang terkandung dalam daun kemangi dengan target enzim *muramidase A* dan *Glucocyltransferase B* pada *S. mutans*

1.4.2 Aspek Praktis

Aspek praktis dari penelitian adalah dapat mengembangkan ilmu pengetahuan dan membantu praktisi dalam menemukan bahan alternatif yaitu sebagai bahan obat kumur rongga mulut dengan pertimbangan efek samping yang lebih rendah dan menunda perkembangan resistensi bakteri, serta menjadi acuan untuk penelitian lanjut dalam bidang kedokteran