

Screening of Bioactive Compounds of Gambir leaf (*Uncaria gambir* Roxb) as Antibiofilm Against the Glucosyltransferase of *Streptococcus mutans* Enzyme

Idham Khalid^{1*}, Dea Kurnia Sari², Muttapien³, Daniel⁴, Frengki⁴, Ali Makmur⁵, Lian Varis Riandi³,
Riyan Ferdian¹, Amiruddin¹

¹Laboratorium Klinik, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

²Program Studi Pendidikan Dokter Hewan, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

³Laboratorium Parasitologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

⁴Laboratorium Farmakologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

⁵Laboratorium Biokimia, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

*Corresponding author: idhamkhalid157@usk.ac.id

ABSTRACT

The use of natural ingredients in dental care, such as manginang which has become part of the Minang community culture, is considered an alternative dental care that must be created to overcome the negative impacts of dental care made from artificial materials. The core of this study is to change the manginang tradition towards logical verification through screening of bioactive compounds of gambir leaves (*Uncaria gambir* Roxb.) as antibiofilms against *Streptococcus mutans*. This study was conducted using an *in silico* strategy approach with the help of computer programs such as MOE v.09 and Chimera 1.13.1, as well as the Way2Drug site, protein information bank, and protos_xi. This study began with the collection of ligand information from the writing, followed by transformation into 2D and 3D designs. Other antibiofilm actions were decided using the QSAR procedure through the website (<http://www.way2drug.com/PASSOnline/predict.php>). The selected antibiofilm compounds were then followed by observing their affinity for the receptor (pdb id. 3AIB) using an atomic docking strategy. Finally, the ligand damage profile was observed to anticipate. The results of this study indicate that of the 41 identified gambir leaf compounds, there are 20 compounds that have the potential to have antibiofilm effects with quinnic acid having the highest score (Pa 0.703), while the compound with the strongest affinity for the receptor is chlorogenic acid with an affinity score ($\Delta G_{binding}$) of -16.03 kcal/mol and an average of low toxicity (level IV-VI). However, of the 20 bioactive compounds of gambir leaves, only 5 compounds are predicted to have the same potential as the α -maltose control.

Keywords: Compounds, *Uncaria gambir* Roxb., Antibiofilm, *in silico*

PENDAHULUAN

Menjaga kesehatan mulut tidak hanya membantu mencegah penyakit periodontal, tetapi juga berperan dalam mendukung kesehatan sistemik. Infeksi atau penyakit di rongga mulut dapat menyebar ke bagian tubuh lainnya dan berpotensi menimbulkan komplikasi serius. Penyebab utama penyakit periodontal adalah penumpukan plak gigi yang mengubah mikroflora normal di mulut. Pada tahap awal, tanda dan gejala klinis bisa tidak terlihat atau sangat ringan. Ketika kerusakan jaringan periodontal terus berlanjut dapat menyebabkan rongga gusi semakin dalam dan tulang alveolar rusak, mengakibatkan gigi goyang, bergeser, dan akhirnya tanggal. Pada kasus yang lebih

parah, gangguan ini dapat menyebabkan kerusakan fungsi gigitan (Könönen *et al.* 2019).

Karies gigi terjadi akibat interaksi antara mikroorganisme tertentu dengan komponen makanan dalam biofilm yang terbentuk pada permukaan gigi. Mikroorganisme di rongga mulut, baik flora normal maupun patogen berperan dalam perkembangan karies gigi. Bakteri dapat melindungi diri dari bahan kimia, tekanan fisik, dan perubahan pH dengan membentuk biofilm yang merupakan salah satu mekanisme pertahanan terhadap antimikroba dan menyebabkan resistensi (Utami *et al.* 2020).

Biofilm merupakan kumpulan bakteri yang terakumulasi dalam matriks polimer

yang diproduksi oleh bakteri itu sendiri. Di dalam biofilm, sel-sel bakteri terbungkus oleh matriks ekstraseluler atau *Extracellular Polymeric Substances* (EPS) yang dihasilkan oleh bakteri tersebut (Purbowati *et al.* 2017). Matriks biofilm terdiri dari protein, polisakarida, dan DNA ekstraseluler (Vestby *et al.* 2020). Penyakit yang berhubungan dengan biofilm bersifat persisten, sulit diatasi oleh sistem imun, dan tidak selalu merespon pengobatan antimikroba. Oleh karena itu, pengendalian bakteri yang mencakup perusakan biofilm lebih efektif.

Streptococcus mutans merupakan bakteri umum penyebab karies gigi. Bakteri ini mengkolonisasi rongga mulut dan membentuk biofilm menggunakan gula sebagai substrat biofilm untuk sintesis EPS melalui enzim *glucosyltransferase* (GTF) dan *fructosyltransferase* (FTF) (Leme *et al.* 2006; Ham *et al.* 2022). Bakteri ini menghasilkan tiga jenis GTF dari gen *gtfB*, *gtfC*, dan *gtfD* (Koo *et al.* 2010). *gtfB* dan *gtfC* terlibat dalam perlekatan awal mikroba dan memberikan stabilitas matriks (Ren *et al.* 2016).

Pencegahan karies yang efektif meliputi penghambatan mikroorganisme kariogenik, pengobatan dengan agen antibiofilm, dan pengendalian asupan gula. Produk alami dianjurkan karena memiliki efek samping lebih sedikit dibandingkan antimikroba sintetis (Chen *et al.* 2020). *Streptococcus mutans* dapat melekat pada permukaan gigi dan berkontribusi pada pembentukan biofilm. Obat kumur klorheksidin dianggap agen antiplak utama dengan karakteristik bakterisida dan bakteriostatik, tetapi memiliki efek samping seperti perubahan warna gigi dan iritasi (Mehdipour *et al.* 2022).

Penggunaan senyawa sintetik seperti klorheksidin, delmopinol, dan triclosan menunjukkan aktivitas penghambatan kuat terhadap perkembangan biofilm, tetapi juga

dapat mengganggu flora normal mulut dan menimbulkan efek samping seperti muntah, diare, dan pewarnaan gigi (Cao *et al.* 2019). Oleh karena itu, pemanfaatan produk alami sebagai alternatif pencegahan karies gigi menjadi strategi yang prospektif karena berpotensi mengurangi efek samping dan resistensi bakteri (Paul *et al.* 2019).

Salah satu tanaman obat yang berpotensi dalam perawatan gigi yakni daun gambir (*Uncaria gambir* Roxb.) yang memiliki sifat astringent dan antibakteri. Kandungan katekin pada daun gambir dapat mencegah pembentukan glukukan yang berperan dalam perlekatan *Streptococcus mutans*, sedangkan katekol menghambat aktivitas enzim *glucosyltransferase* (Chen *et al.* 2020). Glukan yang dihasilkan memperkuat agregasi sel dan pembentukan karies gigi (Bowen and Koo, 2011). Selain katekin dan katekol, senyawa lain dalam daun gambir memiliki potensi antibiofilm yang belum sepenuhnya dipelajari atau diidentifikasi melalui penelitian lebih lanjut.

Untuk mengatasi keterbatasan tersebut, metode *in silico* digunakan sebagai pendekatan awal dan relevan dalam upaya mengeksplorasi potensi senyawa lainnya. Metode *in silico* ini analog dengan uji *in vitro* secara enzimatik maupun *in vivo* pada hewan coba. Metode ini memanfaatkan data-data biologis yang tersedia gratis pada *database online* seperti data senyawa kimia pada PubChem yang diolah menggunakan *software* yang sesuai tujuan seperti MOE untuk molecular docking; Way2Drug untuk pengolahan data HKSA (QSAR); dan SwissADME, pkCSM, protox_ii untuk akses data farmakokinetik dan toksisitas. Dalam penelitian ini metode *in silico* ditujukan melakukan skrining senyawa aktif daun gambir yang berpotensi sebagai antibiofilm melalui penekanan fungsi enzim *glucosyltransferase* bakteri *Streptococcus mutans*.

MATERI DAN METODE

Alat dan Bahan Penelitian

Pengujian *in silico* dilakukan menggunakan ligan dan reseptor berupa molekul virtual. Senyawa bioaktif dari daun gambir dikumpulkan melalui pencarian literatur, kemudian setiap senyawa dikonversi ke format SMILES dan didesain dalam bentuk struktur 2D dan 3D. Reseptor yang digunakan adalah enzim glucosyltransferase yang berhubungan dengan biofilm bakteri *Streptococcus mutans*, yang diunduh dari www.rscb.org (pdb id. 3AIB). Pengujian *in silico* menggunakan perangkat keras dengan spesifikasi CPU Intel® Core™ i5-2450, dan sistem operasi Windows 10 64-bit. Perangkat lunaknya menggunakan aplikasi MOE (Molecular Operating Environment) yang dikembangkan oleh Chemical Computing Group, Inc. (Montreal, Kanada) dan dibantu oleh beberapa server web seperti <http://www.way2drug.com/PASSOnline/predict.php> dan <https://tox.charite.de/protox3/>.

Metode penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental komputasi melalui pendekatan *in silico* dengan melakukan penelusuran senyawa bioaktif dari daun gambir (*Uncaria gambir* Roxb) sebagai agen antibiofilm terhadap bakteri *S. mutans*.

Prosedur penelitian

Penelusuran literatur senyawa bioaktif daun gambir

Penulis mengidentifikasi kandungan senyawa bioaktif daun gambir (*Uncaria gambir* Roxb) melalui beberapa artikel Science Direct, PubMed, Scopus, ProQuest dan Google Scholar. Penentuan potensi senyawa bioaktif daun sirih hijau sebagai antibiofilm terhadap bakteri *S. mutans*

berdasarkan analisis QSAR (Quantitative Structure Activity Relationship) Way2Drug.

Penilaian potensi senyawa bioaktif daun gambir (*Uncaria gambir* Roxb) sebagai agen antibiofilm terhadap bakteri *S. mutans* melalui platform Way2drug

Untuk memprediksi aktivitas antibakteri *S. mutans*, web server Prediction of Activity Spectra for Substances (PASS) digunakan untuk memprediksi aktivitas antibakteri terhadap *S. mutans* dengan menggunakan data SMILES dari senyawa uji yang diunduh di PubChem. Hasil analisis bioaktivitas senyawa ditampilkan dalam bentuk nilai probable activity (Pa) dan probable inactivity (Pi) yang berkisar antara 0,0 hingga 1,0. Jika nilai Pa suatu senyawa lebih tinggi dari Pi, senyawa tersebut diprediksi memiliki aktivitas antibakteri dan antibiofilm semakin valid. Nilai Pa antibakteri senyawa uji yang diprediksi ini diperoleh dari analisis QSAR terhadap berbagai senyawa antibakteri dalam database, dimana nilai Pa meningkat seiring dengan kemiripan struktur senyawa uji dengan senyawa yang telah dianalisis.

Molecular docking senyawa bioaktif daun gambir (*Uncaria gambir* Roxb) terhadap glucosyltransferase *S. mutans*

Sebelum melaksanakan proses molecular docking, Langkah pertama adalah memverifikasi metode docking dengan menggunakan ligan asli yang terikat pada reseptor. Metode ini dianggap valid jika nilai Root Mean Square (RMSD) antara ligan asli dan salinannya kurang dari 2 Å (Hambat *et al.* 2022). Setelah validasi, ligan dan reseptor dioptimasi untuk mencapai binding affinity yang paling stabil, dengan menambahkan atom hidrogen, mengatur energi parsial, dan meminimalkan energi ligan dan reseptor.

Proses docking dilanjutkan dengan mengikuti situs pengikatan dari ligan asli pada reseptor 3AIB. Parameter docking lainnya mengikuti protokol bawaan dari perangkat lunak molecular MOE. Hasil dari molecular docking, yang berupa energi bebas ($\Delta G_{\text{binding}}$) disajikan dalam tabel dan divisualisasikan menggunakan LgPlot yang terintegrasi dengan MOE.

Prediksi toksisitas akut senyawa bioaktif

Toksitas akut senyawa ditandai dengan nilai LD_{50} yang diprediksi melalui ProTox (https://tox-new.charite.de/prottox_II/). Prediksi toksitas oral akut didasarkan pada analisis kesamaan 2D (input SMILE) fragmen toksik ± 38.000 senyawa unik dengan nilai LD_{50} oral yang sudah diketahui yang diukur pada rodent. Klasifikasi level toksitas LD_{50} ini mengikuti standar Globally Harmonized System (GHS) yang membaginya ke dalam enam kelas, dari kelas I hingga VI. Masing-masing kelas menggunakan ambang LD_{50} yang berbeda, yaitu 5, 50, 300, 2000, dan 5000 mg/kg berat badan. Detailnya sebagai berikut: kelas I (fatal jika tertelan) untuk $LD_{50} \leq 5$ mg/kg, kelas II (fatal jika tertelan) untuk $5 < LD_{50} \leq 50$ mg/kg, kelas III (beracun jika tertelan) dengan $50 < LD_{50} \leq 300$ mg/kg, kelas IV (berbahaya jika tertelan) dengan $300 < LD_{50} \leq 2000$ mg/kg, kelas V (mungkin berbahaya jika tertelan) dengan $2000 < LD_{50} \leq 5000$ mg/kg, dan kelas VI (tidak beracun) untuk $LD_{50} > 5000$ mg/kg (Naufa *et al.* 2022).

Analisis data

Data ditabulasikan melalui tabel, ditampilkan melalui visualisasi gambar, dan dianalisis secara deskriptif

HASIL DAN PEMBAHASAN

Skrining senyawa bioaktif daun gambir (*Uncaria gambir* Roxb.) yang berpotensi

sebagai antibiofilm terhadap enzim glucosyltransferase bakteri *Streptococcus mutans*

Langkah awal uji digital dilakukan skrining literatur senyawa bioaktif apa saja yang telah dilaporkan dalam daun gambir (*Uncaria gambir* Roxb.). Berdasarkan skrining tersebut berhasil diidentifikasi 41 senyawa yang terkandung daun gambir, namun hanya 20 senyawa diprediksi aktif sebagai antibiofilm. Berikut 41 senyawa yang diidentifikasi dengan 20 senyawa memiliki skor hambatan terhadap enzim glucosyltransferase seperti pada **Tabel 1** berikut.

Nilai P_a (*Probable activity*) merupakan estimasi kemungkinan suatu senyawa untuk aktif melakukan aktivitas biologis dalam eksperimen laboratorium, sedangkan nilai P_i merupakan kebalikannya. Apabila suatu senyawa memiliki P_a lebih besar daripada P_i ($P_a > P_i$), maka dapat diperkirakan bahwa senyawa tersebut berpotensi memiliki aktivitas biologis yang diharapkan.

Efek antibiofilm terkuat dimiliki oleh senyawa quinic acid dengan skor P_a sebesar 0.703, kemudian gallic acid dengan P_a 0.683, dst. Semakin mendekati angka 1 skor nilai P_a yang dimiliki maka potensi efek biologis semakin kuat (Filimonov *et al.* 2014). Nilai skor P_a kontrol α -maltose sebesar 0.887, artinya tidak ada satupun senyawa bioaktif daun gambir yang memiliki efek antibiofilm yang lebih kuat dibandingkan kontrol α -maltose. Walaupun demikian hampir sebagian senyawa bioaktif daun gambir diprediksi memiliki potensi sebagai antibiofilm.

Docking Molekuler

Potensi antibiofilm hasil analisis QSAR 20 senyawa bioaktif daun gambir (*Uncaria gambir* Roxb.) terhadap enzim Gtf bakteri *S. mutans* juga dikonfirmasi kekuatan afinitasnya melalui

metode molecular docking. Protein glucosyltransferase *S.mutans* (3AIB) dipilih sebagai reseptor berdasarkan model yang dilaporkan Ito *et al.* (2011). Parameter afinitas yang diamati adalah energi bebas

($\Delta G_{binding}$) yang menunjukkan nilai spontanitas reaksi dan kestabilan antara ligan-reseptor, semakin rendah $\Delta G_{binding}$ maka interaksi semakin kuat (Susanty *et al.* 2021; Nainggolan *et al.* 2023).

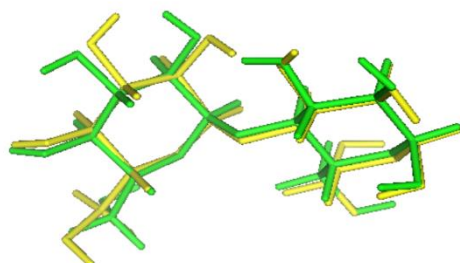
Tabel 1 Sebanyak 41 senyawa yang diidentifikasi dengan 20 diantaranya memiliki skor hambatan terhadap enzim glucosyltransferase melalui teknik QSAR

No	Senyawa	Glucosyltransferase Inhibitor
1	Catechin	0.186
2	(-)-Epicatechin	0.186
3	(+)-Epicatechin	0.186
4	Gallocatechin	0.186
5	Epigallocatechin	0.186
6	Epicatechin gallate	0.134
7	Cinchonain Ia	-
8	Gambiriin A1	-
9	Gambiriin A2	-
10	Gambiriin A3	-
11	Gambiriin B1	-
12	Gambiriin B2	-
13	Gambiriin B3	-
14	Gambiriin C	-
15	Procyanidin B1	-
16	Procyanidin B3	-
17	Dimeric proanthocyanidin	-
18	Dehydrodiccatechin A	-
19	Hyperoside	0.669
20	Isoquercitrin	0.669
21	Pyrocatechol	0.610
22	Phloroglucinol	0.593
23	3-methylphenol	0.422
24	2-methoxyphenol	0.577
25	4-methoxyphenol	0.587
26	2,6-dimethoxyphenol	0.577
27	2-methoxy-4-methylphenol	0.387
28	4-ethyl-2-methoxyphenol	0.297
29	2-methoxy-4-vinylphenol	0.298
30	4-allyl-2-methoxyphenol	0.220
31	4-allyl-2,6-dimethoxyphenol	0.225
32	Quinic acid	0.703
33	Gallic acid	0.683
34	Gambirine	-
35	Gambirtannine	-
36	Dihydrogambirtannine	-
37	Tetrahydroalstonine	-
38	Dihydrocorynantheine	-
39	Mitrephylline	-
40	Cinchonain Ia	-
41	Uncarine B	-
42	α -maltose	0.887

*Catatan: Score diatas menunjukkan nilai Pa (*Probability active*), sedangkan score Pi (*Probability inactive*) tidak ditampilkan karena memiliki nilai < 0.1

Sebelum pengujian terlebih dahulu dilakukan validasi metode docking terhadap native ligand α -maltose yang terkandung pada reseptor glucosyltransferase *S. mutan*

(3AIB) dan diperoleh nilai RMSD sebesar 0.714 Å, sehingga metode docking memenuhi syarat validitas dan dapat dilanjutkan untuk docking senyawa uji.



Gambar 1. Nilai RMSD native ligand α -maltose (yellow) terhadap copy ligand α -maltose (hijau) dengan score 0.714Å

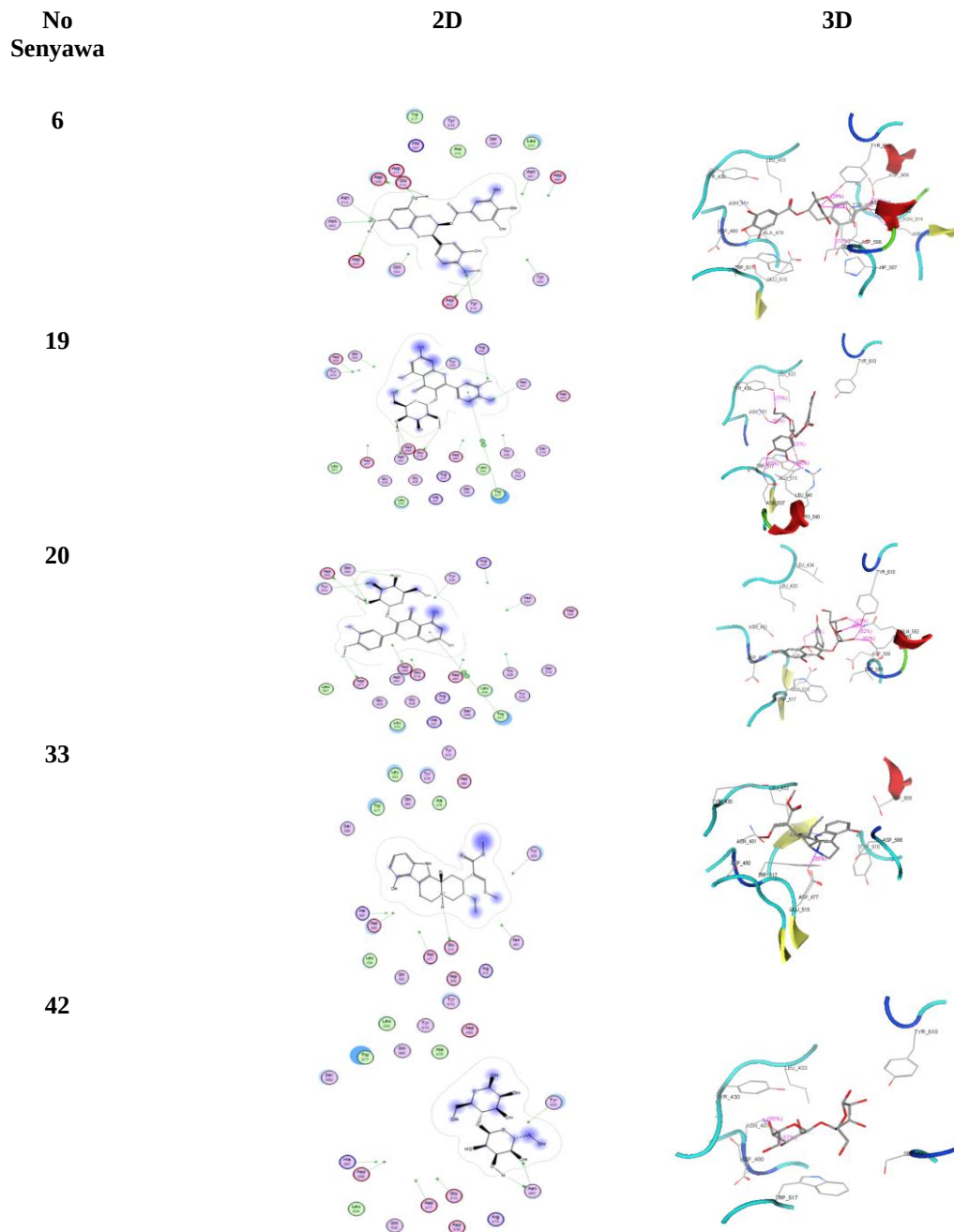
Selanjutnya molecular docking dilakukan terhadap 21 senyawa bioaktif daun gambir (*Uncaria gambir* Roxb.) ditampilkan pada **Tabel 2** berikut.

Tabel 2. $\Delta G_{binding}$ & Ikatan hidrogen 20 senyawa bioaktif daun gambir (*Uncaria gambir* Roxb.) dan kontrol α -maltose

Kode Senyawa	Senyawa	$\Delta G_{binding}$ (kcal/mol)	Hydrogen Bond
1	Catechin	-12.79	Asp 477, Asn 481 (2), Glu 515, Asp 588
2	(-)-Epicatechin	-10.84	Asp 480 (2), Glu 515 (2)
3	(+)-Epicatechin	-13.07	Asp 477, Gln 592 (2), Asp 909
4	Gallocatechin	-12.17	Asp 593 (2), Gln 592 (2)
5	Epigallocatechin	-13.65	Tyr 430 (2), Glu 515 (2), Asp 593, Gln 592
6	Epicatechin gallate	-16.03	Asp 588, Asp 593, Tyr 610 (2), Asp 909, Asn 862, Asn 914
19	Hyperoside	-15.63	Tyr 430 (2), Asn 481, Glu 515, Asn 537, Arg 540
20	Isoquercitrin	-15.46	Asp 477, Asp 593, Tyr 610 (2), Gln 592 (2)
21	Pyrocatechol	-7.89	Asp 477, Asp 588
22	Phloroglucinol	-7.55	Tyr 430 (2), Asn 481
23	3-methylphenol	-7.22	Asp 477, Glu 515
24	2-methoxyphenol	-7.53	Asp 477
25	4-methoxyphenol	-7.27	Asp 480 (2), Tyr 430
26	2,6-dimethoxyphenol	-7.43	Asp 480 (3), Thr 426
28	4-ethyl-2-methoxyphenol	-8.11	Asp 477
29	2-methoxy-4-vinylphenol	-7.37	Asn 481 (2), Tyr 430
30	4-allyl-2-methoxyphenol	-9.73	Glu 515 (2), Asp 588
31	4-allyl-2,6-dimethoxyphenol	-8.04	-
32	Quinic acid	-8.57	Asp 477, Asp 588
33	Gallic acid	-14.61	Glu 515
42	α -maltose	-13.63	Asn 481 (2), Glu 515, Arg 540

Berikut visualisasi gambar 2D dan 3D 4 senyawa daun gambir (*Uncaria gambir* Roxb.); epicatechin gallate(6),

hyperoside(19), isoquercitrin(20), gallic acid(33) dan kontrol α -maltose(42)



Gambar 2. Visualisasi struktur 2D dan 3D hasil molecular docking 4 senyawa bioaktif daun gambir (*Uncaria gambir* Roxb.) dengan afinitas terkuat dan kontrol α -maltose sebagai inhibitor enzim Glucosyltransferase *Streptococcus mutan*.

Hasil molecular docking berupa energi yang dibebaskan ($\Delta G_{\text{binding}}$) (kcal/mol) pasca

interaksi ligan dengan reseptor. Semakin rendah nilai energi ikatan yang terbentuk,

kekuatan pengikatan antara ligan dan reseptor semakin kuat. Hasil docking molecular senyawa uji menghasilkan nilai $\Delta G_{\text{binding}}$ pada rentang -7.27 kcal/mol hingga -16.03 kcal/mol (**Tabel 2**). Inhibitor enzim Gtf terkuat ditunjukkan oleh senyawa Epicatechin gallate dan Hyperoside dengan $\Delta G_{\text{binding}}$ masing-masing sebesar -16.03 kcal/mol dan -15.63 kcal/mol. Keduanya mengikat reseptor glicosiltransferase dengan masing-masing 7 ikatan hidrogen (Asp 588, Asp 593, Tyr 610 (2), Asp 909, Asn 862,

Asn 914) dan 6 ikatan hidrogen (Tyr 430 (2), Asn 481, Glu 515, Asn 537, Arg 540). Keduanya memiliki afinitas lebih kuat dibanding kontrol α -maltose ($\Delta G_{\text{binding}}$ sebesar -13.63 kcal/mol) yang mengikat reseptor glicosiltransferase pada asam amino Asn 481 (2), Glu 515, Arg 540

Selanjutnya prediksi toksisitas 20 senyawa bioaktif daun gambir (*Uncaria gambir* Roxb.) ditelusuri menggunakan analisis protox ii yang ditabulasikan seperti pada **Tabel 3** dibawah ini.

Tabel 3. Prediksi toksisitas senyawa senyawa bioaktif biji daun gambir (*Uncaria gambir* Roxb.) berdasarkan analisis protox_ii

No Senyawa	Senyawa	Prediksi LD ₅₀	Level toksisitas	Carcinogenicity	Hepatotoxicity
1	Catechin	10 g/kg	VI	No	No
2	(-)-Epicatechin	10 g/kg	VI	No	No
3	(+)-Epicatechin	10 g/kg	VI	No	No
4	Gallocatechin	10 g/kg	VI	No	No
5	Epigallocatechin	10 g/kg	VI	No	No
6	Epicatechin gallate	1 g/kg	IV	No	No
19	Hyperoside	5 g/kg	V	No	No
20	Isoquercitrin	5 g/kg	V	No	No
21	Pyrocatechol	100 mg/kg	III	Yes	No
22	Phloroglucinol	200 mg/kg	III	No	No
23	3-methylphenol	242 mg/kg	III	No	No
24	2-methoxyphenol	520 mg/kg	IV	Yes	No
25	4-methoxyphenol	1.6 g/kg	IV	Yes	No
26	2,6-dimethoxyphenol	1.19 g/kg	IV	No	Yes
27					
28	4-ethyl-2-methoxyphenol	1.93 g/kg	IV	Yes	No
29	2-methoxy-4-vinylphenol	1.56 g/kg	IV	No	No
30	4-allyl-2-methoxyphenol	1.93 g/kg	IV	No	No
31	4-allyl-2,6-dimethoxyphenol	1.93 g/kg	IV	No	No
32	Quinic acid	9.8 g/kg	VI	No	No
33	Gallic acid	2 g/kg	V	Yes	No
42	α -maltose	2.5 g/kg	V	No	No

Selanjutnya dilakukan skrining senyawa bioaktif biji daun gambir (*Uncaria gambir* Roxb.) yang berpeluang paling aktif

1. Prediksi aktivitas intrinsik jika $P_a > 0.7 = 3$

sebagai antibiofilm terhadap bakteri *Streptococcus mutans* berdasarkan kriteria berikut

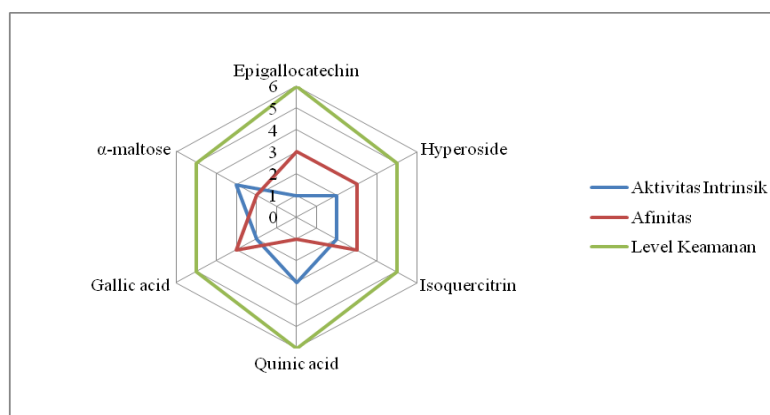
- $0.5 < Pa < 0.7$ = 2
 $Pa < 0.5$ = 1
2. Prediksi afinitas
- Energi bebas ($\Delta G_{\text{binding}}$) < kontrol = 1
 Energi bebas ($\Delta G_{\text{binding}}$) < kontrol = 3
 Energi bebas ($\Delta G_{\text{binding}}$) < kontrol = 2
3. Prediksi keamanan
- Class I: fatal if swallowed ($LD50 \leq 5$) = 1
 Class II: fatal if swallowed ($5 < LD50 \leq 50$) = 2
 Class III: toxic if swallowed ($50 < LD50 \leq 300$) = 3
 Class IV: harmful if swallowed ($300 < LD50 \leq 2000$) = 4
 Class V: may be harmful if swallowed ($2000 < LD50 \leq 5000$) = 5
 Class VI: non-toxic ($LD50 > 5000$) = 6

Diperoleh 5 dari 20 senyawa antibiofilm bioaktif daun gambir (*Uncaria gambir* Roxb.) yang berpeluang besar memiliki aktivitas sebagai antibiofilm

sebagaimana kontrol α -maltose seperti tergambar pada **Tabel 4** dan **Gambar 3** berikut.

Tabel 4. Lima senyawa terbaik dari senyawa bioaktif daun gambir (*Uncaria gambir* Roxb.) yang berpotensi sebagai kandidat antibiofilm berdasarkan parameter aktivitas intrinsik, afinitas, dan keamanannya.

Senyawa	Aktivitas Intrinsik	Afinitas	Level Keamanan
Epigallocatechin	1	3	6
Hyperoside	2	3	5
Isoquercitrin	2	3	5
Quinic acid	3	1	6
Gallic acid	2	3	5
α -maltose	3	2	5



Gambar 3. Grafik radar *chard* 5 senyawa terbaik dari senyawa bioaktif daun gambir (*Uncaria gambir* Roxb.) yang berpotensi sebagai kandidat antibiofilm berdasarkan parameter aktivitas intrinsik, afinitas, dan keamanannya

Berdasarkan **Tabel 3** dan **Gambar 3** diperoleh 5 senyawa bioaktif daun gambir

yang paling berpotensi sebagai antibiofilm terhadap enzim glucosiltransferase bakteri

S.mutans yang setara dengan kontrol α -maltose. Prediksi hambatan 5 senyawa bioaktif daun gambir terhadap enzim glucosyltransferase menunjukkan hanya Quinic acid yang menunjukkan aktivitas intrinsik setara dibanding kontrol, namun keempat senyawa lainnya memiliki afinitas lebih baik dan juga lebih aman dibanding kontrol α -maltose.

KESIMPULAN

Upaya penelusuran senyawa bioaktif daun gambir (*Uncaria gambir* Roxb.) dilakukan menggunakan 3 metode in silico. Melalui teknik QSAR dapat diprediksi aktivitas biologisnya, melalui teknik molecular docking dapat diketahui afinitas dan model interaksinya berikatan dengan reseptor, dan melalui toksisitas toksisitas dapat diramalkan kandidat dengan potensi toksisitas yang paling rendah. Hasil penelitian ini menunjukkan dari 41 senyawa bioaktif daun gambir yang diidentifikasi, 20 berpotensi memiliki efek antibiofilm, namun hanya 5 senyawa diperkirakan memiliki potensi setara dibanding kontrol.

DAFTAR PUSTAKA

- Filimonov DA, Lagunin AA, Glorizova TA, Rudik AV, Druzhilovskii DS, Pogodin PV, et al. 2014. Prediction of the biological activity spectra of organic compounds using the pass online web resource. *Chem. Heterocycl. Compd.*, 50:ss444–457. 10.1007/s10593-014-1496-1
- Hambal, M., Frengki, F., Sari, WE., and Vanda, H. 2022. In silico prediction of flavan-3-ol as a bioactive compound of *Calophyllum macrophyllum* as a potential drug against angiostrongylus eosinophilic meningitis. *Veterinary World*, 15(5): 1305-1313.
- Ito, K., Ito, S., Shimamura, T., Weyand, S., Kawarasaki, Y., Misaka, T., Abe, K., Kobayashi, T., Cameron, A. D., & Iwata, S. 2011. Crystal structure of glucansucrase from the dental caries pathogen *Streptococcus mutans*. *Journal of molecular biology*, 408(2), 177–186. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2011.02.028>
- Nainggolan SI, Rajuddin R, Hasanuddin H, Keumalazia R, Hambal M, Frengki F. 2023. In silico Analysis of Anticancer Curcumin and its Metabolites in increasing the effectiveness of Paclitaxel. *Research J. Pharm. and Tech.* 16(2): 885-892.
- Susanty A, Dachriyanus D, Yanwirasti Y, et al. 2021. Cytotoxic activity, and molecular docking of indole alkaloid voacangine and bisindole alkaloid vobtusine, vobtusine lactone from the Indonesian plant: *Voacanga foetida* (Blume) Rolfe. *Indones J Pharm*, 32(4):442e453
- Cao, X., Ya, Q., Fan, M. and Liu, C. (2019). Antimicrobial effects of the ginsenoside Rh2 on monospecies and multispecies cariogenic biofilms. *Journal of Applied Microbiology*, 126(3): 740–751.
- Chen, X., Daliri, E.B., Kim, N., Kim, J.R., Yoo, D. and Oh, D.H. (2020). Microbial etiology and prevention of dental caries: exploiting natural products to inhibit cariogenic biofilms. *Pathogens*, 9(7): 1-15.
- Ham, S.Y., Kim, H.S., Cha, E., Lim, T., Byun, Y. and Park, H.D. (2022). Raffinose inhibits *Streptococcus mutans* biofilm formation by targeting glucosyltransferase. *Microbiology Spectrum*, 10(3): 1-13.
- Könönen, E., Gursoy, M. and Gursoy, U.K. (2019). Periodontitis: a multifaceted disease of tooth-supporting tissues. *Journal of clinical medicine*, 8(8): 1-12.
- Leme, A.F.P., Koo, H., Bellato, C.M., Bedi. G. and Cury, J.A. (2006). The role of sucrose in cariogenic dental biofilm formation—new insight. *Journal of Dental Research*, 85(10): 878-887.
- Mehdipour, A., Ehsani, A., Samadi, N., Ehsani, M. and Sharifinejad, N. (2022). The antimicrobial and antibiofilm effects of three herbal extracts on *Streptococcus mutans* compared with Chlorhexidine 0.2% (in vitro study). *Journal of medicine and life*, 15(4): 526–532.
- Naufa, F., Mutiah, R. and Indrawijaya, Y.Y.A. (2022). Studi in silico potensi senyawa katekin teh hijau (*Camellia sinensis*) sebagai antivirus SARS CoV-2 terhadap spike glycoprotein (6LZG) dan main protease (5R7Y). *Journal of Food Pharmaceutical Sciences*, 10(1): 584-596.
- Purbowati, R., Rianti, E.D.D. dan Ama, F. (2017). Kemampuan pembentukan slime pada *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, MRSA dan *Escherichia coli*. *Jurnal Florea*, 4(2): 1-9.
- Ren, Z., Cui, T., Zeng, J., Chen, L., Zhang, W., Xu, X., Cheng, L., Li, M., Li, J., Zhou, X., and Li, Y. (2016). Molecule targeting glucosyltransferase inhibits *Streptococcus mutans* biofilm formation and virulence. *Antimicrobial Agents And Chemotherapy*, 60(1): 126–135.
- Utami, P.S.M., Noorhamdani, dan Rahayu, M. (2020). Efek ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum*) dalam menghambat pembentukan biofilm *Staphylococcus aureus* secara in vitro. *Journal of Agromedicine and Medical Sciences*, 6(3): 168-173.
- Vestby, L.K., Gronseth, T., Simm, R. and Nesse, L.L. (2020). Bacterial biofilm and its role in the pathogenesis of disease. *Antibiotics (Basel)*, 9(2): 1-29.