

**Skrining Senyawa Bioaktif Buah Pinang
(*Areca catechu* L.,) Sebagai Antibiofilm Terhadap
Enzim Glycosyltransferase Produksi *Streptococcus mutans***

**(SCREENING OF BIOACTIVE COMPOUNDS OF BETEL NUT
(*ARECA CATECHU* L.) AS ANTIBIOFILM AGAINST THE GLUCOSYL-
TRANSFERASE ENZYME PRODUCED BY *STREPTOCOCUS MUTANS*)**

**Daniel Daniel^{1*}, Frengki Frengki¹, Abrar Nopan Lubis²,
Hamny Sofyan³, Lailia Dwi Kusuma Wardhani³, Siti Aisyah⁴**

¹Department of Pharmacology, ²Veterinary Medicine Bachelor Program,

³Department of Anatomy, ⁴Department of Pathology,
Faculty of Veterinary Medicine, Syiah Kuala University,
Jl. Tgk. Hasan Krueng Kalee No.4, Kopelma Darussalam,
Kota Banda Aceh, Aceh, Indonesia 243111
Email: daniel@usk.ac.id

ABSTRACT

The use of natural materials in dental care, such as the *manginang* tradition which has become part of the Minang community's culture, is considered as an alternative natural dental care that needs to be developed to overcome the negative effects of dental care made from synthetic materials. This research was aimed to prove through screening of the bioactive compounds of Betel nut (*Areca catechu* L.) as an antibiofilm against *Streptococcus mutans* bacteria. The hope is that the betel chewing tradition will gain scientific support for healthy mouth and teeth. This research was carried out using an *in silico* approach using Molecular Operating Environment (MOE v.09) and Chimera 1.13.1 software, as well as the Way2Drug website, protein data bank, and prottox_ii. This research began with collecting ligand data from literature, followed by conversion to *Simplified Molecular-Input Line-Entry* (SMILE) and three dimension (3D) formats. Next, antibiofilm activity was determined using the Quantitative Structure-Activity Relationship (QSAR) technique via the website (<http://www.way2drug.com/PASSOnline/predict.php>). Compounds with selected antibiofilm activity were further analyzed for their affinity toward the receptor (PDB ID: 3AIB) using molecular docking. Finally, the toxicity profile of the ligand was observed to predict its safety. The results of this study showed that 29 betel nut bioactive compounds had the potential to produce antibiofilm effects with benzoic acid having the highest score (Pa 0.775), having a strong affinity for the receptor with isorhamnetin as the strongest ligand ($\Delta G_{\text{binding}}$ -12.54 kcal/mol) and on average having low toxicity (level IV-VI). The assessment of three potential parameters across 29 bioactive compounds in Betel nut seeds revealed that five compounds exhibited comparable or superior efficacy to the α -maltose control.

Keywords: Bioactive Compounds; Betel nut (*Areca catechu* L.); Antibiofilm; *in silico*; Glycosyltransferase

ABSTRAK

Penggunaan bahan alami dalam perawatan gigi seperti tradisi *manginang* yang telah menjadi budaya masyarakat minang dianggap sebagai salah satu alternatif perawatan gigi alami yang perlu dikembangkan dalam mengatasi dampak buruk perawatan gigi dari bahan sintetik. Tujuan penelitian ini yaitu untuk pembuktian secara ilmiah melalui skrining senyawa bioaktif buah pinang (*Areca catechu* L) sebagai antibiofilm terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. Harapannya bisa menjadikan tradisi *menginang* mendapatkan dukungan secara ilmiah untuk menyehatkan mulut dan gigi. Penelitian ini dilakukan melalui pendekatan metode *in silico* dengan bantuan perangkat lunak seperti *Molecular Operating Environment* (MOE v.09) dan *Chimera* 1.13.1, serta website Way2Drug, protein data bank, dan protox_ii. Penelitian ini diawali dengan pengumpulan data *ligand* dari sumber literatur terpercaya yang dilanjutkan dengan konversi ke format *Simplified Molecular-Input Line-Entry System* (SMILE) dan tiga dimensi (3D). Selanjutnya dilakukan penentuan aktivitas antibiofilm menggunakan teknik *Quantitative Structure-Activity Relationship* (QSAR) melalui website (<http://www.way2drug.com/PASSOnline/predict.php>). Senyawa dengan antibiofilm terpilih dilanjutkan pengamatan afinitasnya terhadap reseptor (pdb id. 3AIB) melalui teknik *molecular docking*. Terakhir diamati profil toksisitas *ligand* tersebut untuk memprediksi keamanannya. Hasil penelitian ini menunjukkan 29 senyawa bioaktif buah pinang berpotensi memiliki efek antibiofilm dengan asam bezoat memiliki skor tertinggi (Pa 0.775), memiliki afinitas yang kuat terhadap reseptor dengan isorhamnetin sebagai *ligand* terkuat ($\Delta G_{\text{binding}}$ -12.54 kcal/mol) dan rata-rata memiliki toksisitas yang rendah (level IV-VI). Berdasarkan tiga parameter potensi yang dinilai dari 29 senyawa bioaktif buah pinang diperoleh lima senyawa memiliki potensi setara atau lebih baik dibanding kontrol α -maltose.

Kata-kata kunci: senyawa bioaktif; buah pinang (*Areca catechu* L.); antibiofilm; *in silico*; glycosyltransferase

PENDAHULUAN

Dalam rongga mulut manusia dan hewan terdapat berbagai macam mikro-organisme, baik berupa flora normal maupun patogen yang memiliki peranan penting dalam perkembangan karies gigi. Bakteri rongga mulut memiliki kemampuan pertahanan diri dari paparan bahan kimia, tekanan fisik dan perubahan pH mulut melalui pembentukan biofilm (Mira *et al.*, 2023).

Biofilm merupakan selaput permukaan biologis yang terdiri atas sel-sel mikrob dan *extracellular polymeric substance* (EPS) sebagai matriks primer biofilm hasil metabolisme mikrob tersebut (Flemming *et al.*, 2023). Selain sebagai tempat berkumpulnya sel bakteri, biofilm juga berperan sebagai perangkap nutrisi dalam cairan biologis, sehingga menyebabkan akumulasi nutrisi lebih tinggi di dalam

matriks biofilm, dan menciptakan lingkungan yang mendukung pertumbuhan dan proliferasi mikroorganisme (Zhang *et al.*, 2023)..

Keberadaan biofilm sangat menguntungkan bagi bakteri dalam mempertahankan diri dari fagositosis oleh sel-sel imun dan perlindungan terhadap aktivitas antimikrob, perubahan suhu dan pH lingkungan, serta keterbatasan nutrisi (Karatan dan Watnick, 2009; Abebe 2020; Flemming *et al.*, 2023). Kemampuan ini menjadikan biofilm sebagai tantangan utama dalam berbagai bidang, termasuk klinis, industri pangan, serta lingkungan. Oleh karena itu, strategi pengendalian bakteri penghasil biofilm memerlukan pendekatan multidimensional, seperti penggunaan agen antibiofilm, senyawa biosurfaktan dan molekul sintetis yang dapat mendegradasi matriks

biofilm dan mengganggu integritas strukturnya (Sharma *et al.*, 2023). Selain itu, penghambatan mekanisme *quorum sensing* (QS) atau sistem komunikasi antar sel bakteri, dapat mencegah terbentuknya bio-film tanpa memicu resistansi (Díaz-Pascual *et al.*, 2023).

Bakteri yang paling sering dilaporkan sebagai penyebab terbentuknya biofilm di rongga mulut adalah *Streptococcus mutans* (Marsh dan Zaura, 2017). Bakteri *S. mutans* merupakan flora normal pada rongga mulut dan bakteri ini berkolonisasi pada mukosa rongga mulut, gigi dan orofaring (Marsh dan Martin, 2009). Bakteri *S. mutans* membentuk biofilm sebagai upaya dalam mengatasi adanya perubahan lingkungan. Selain EPS, bakteri *S. mutans* juga memproduksi asam laktat dari hasil metabolisme sisa-sisa makanan yang mengandung gula dan karbohidrat, yang dapat menyebabkan dekalsifikasi dan destruksi jaringan gigi di bawah plak atau karies gigi pada hewan dan manusia (Bowen dan Koo, 2021). Sumber utama produksi EPS dan timbunan asam laktat bakteri oleh *S. mutans* akibat mengkonsumsi gula secara berlebihan dan kurangnya aktivitas perawatan kebersihan gigi dan mulut.

Sukrosa merupakan jenis karbohidrat yang paling sering dilaporkan dalam pembentukan biofilm. Produk metabolitnya berupa molekul *polimer adhesive glucan* yang menjadi jembatan perlekatan mikroorganisme terhadap permukaan gigi. *Streptococcus mutans* akan mengaktifkan enzim glucosyl-transferases (Gtf) (Zhang *et al.* 2021;- Nijampatnam *et al.* 2018). Protein yang dihasilkan ini memiliki tiga tipe atau jenis glukukan berbeda yaitu GtfB menghasilkan *glucans α-1,3-glucosidic linkages*, GtfC menghasilkan *glucans α-1,4-glucosidic linkages*, dan GtfD menghasilkan *glucans α-1,6-glucosidic linkages* (Bowen dan Koo, 2021; Aoki *et al.*, 1986; Hanada dan Kuramitsu. 1988; Hanada and Kuramitsu, 1989). Pembentukan biofilm pada bakteri *S. mutans* dilaporkan juga melibatkan *glucan-binding proteins* (Gbp) yang berperan penting dalam proses *promote adhesion* (Banas dan Vickerman, 2003; Matsumoto-Nakano *et al.*, 2007; Matsumi *et al.*, 2015), dan protein antigen c (PAC) yang merupakan suatu protein permukaan yang sering dihu-

bungkan dengan sifat virulensi bakteri *S. mutans* (Koga *et al.*, 1990).

Akumulasi *S. mutans* pada rongga mulut perlu dikendalikan menggunakan obat kumur. Obat kumur adalah larutan yang dapat menurunkan jumlah mikroba dalam mulut, mencegah penyakit periodontal dan bau mulut serta masalah kesehatan gigi dan mulut lainnya. *Chlorhexidine gluconate* adalah salah satu senyawa aktif yang banyak digunakan sebagai obat kumur. *Chlorhexidine gluconate* mengikat asam amino yang terdapat pada dentin dan membunuh bakteri dalam beberapa jam. Penggunaan *chlorhexidine gluconate* sebagai bahan disinfektan dari kavitas gigi setelah preparasi gigi dapat membantu mengurangi potensi terjadinya karies sekunder dan peningkatan sensitivitas gigi (Eliguzeloglu *et al.*, 2011). Namun, penggunaan jangka panjang *chlorhexidine* dapat menyebabkan efek samping seperti perubahan warna pada gigi, restorasi, serta iritasi pada jaringan lunak (Moghaddam *et al.*, 2022).

Penggunaan bahan alami kembali dikampanyekan sebagai salah satu alternatif menekan dampak merugikan akibat penggunaan bahan kimia termasuk dalam perawatan gigi dan mulut (Heliawati *et al.*, 2022). Penggunaan siwak (*Salvadora persica*) tiap kali mau berwudu' telah lazim digunakan oleh sebagian masyarakat muslim dunia. Masyarakat tradisional di Indonesia pada umumnya dan etnik Minangkabau pada khususnya juga memiliki tradisi perawatan gigi seperti tradisi menginang dengan cara mengunyah bahan-bahan herbal seperti daun sirih, buah pinang, gambir, kapur sirih dan tembakau (Rohmawati *et al.*, 2018; Sutana *et al.*, 2021).

Buah pinang yang merupakan salah satu herbal yang menjadi bagian penting dalam tradisi manginang tersebut, dilaporkan kaya dengan beragam jenis metabolit sekunder di antaranya golongan fenol (31,1%), polisakarida (18,7%), lemak (14,0%), serat (10,8%) dan alkaloid (0,5%) (Garg *et al.*, 2023; Shen *et al.*, 2009). Golongan flavonoid merupakan metabolit sekunder utama yang berhasil diidentifikasi

dari biji dan buah pinang (*Areca catechu* L.). Menurut Zhang *et al.* (2009) pada buah pinang terkandung empat senyawa flavonoid (isorhamnetin, chrysoeriol, luteolin dan ($\pm$)-5-hidroksi-2-(4-hidroksi-3,5-dimetoksifenil)-7-metoksikroman 4-on). Sementara Yang *et al.* (2012) juga telah melaporkan adanya kandungan quercetin, (s)-5-hidroksi-2-(4-hidroksi-3,5-dimetoksifenil)-7-metoksikroman-4-on dan liquiritigenin yang diisolasi dari buah pinang tersebut. Senyawa turunan terpenoid seperti cycloatanol, ergosterol peroxide dan β -sitostenone dari buah pinang juga berhasil diidentifikasi oleh Yang *et al.* (2012).

Ekstrak tanaman herbal yang kaya dengan kandungan senyawa flavonoid dilaporkan memiliki aktivitas anti-Gtf pada bakteri *S. mutans* (Kayalvizhi dan Suganya, 2016). Ekstrak daun teh hitam *Camellia sinensis* secara *in vivo* dilaporkan menekan perkembangan karies pada permukaan gigi tikus yang terinfeksi dengan *S. mutans* (Touyz dan Amsel, 2001). Lebih jauh jenis senyawa flavonoid seperti (-)-*epigallocatechin gallate* dan (-)-*epicatechin gallate* yang memiliki ikatan sakarida, terbukti secara *in vitro* memiliki efek antibiofilm lebih signifikan dibanding efek bakterisidnya (Hattori *et al.*, 1990; Otake *et al.*, 1991; Nakahara *et al.*, 1993). Jenis metabolit golongan terpenoid seperti eugenol, cinnamaldehyde, carvacrol, citral juga dilaporkan menekan produk glucan sebagai bahan pembentukan biofilm (Li *et al.*, 2012; Ortega-Ramirez *et al.*, 2020; Hui *et al.*, 2016). Golongan terpenoid jenis seskuiterpen teroksidasi seperti spathulenol dan trans-nerolidol dilaporkan memiliki aktivitas antibiofilm yang kuat (Gilabert *et al.*, 2011; Lee *et al.*, 2014).

Dengan demikian, biofilm bakteri rongga mulut terutama yang dibentuk oleh *S. mutans*—memainkan peran penting dalam patogenesis karies gigi melalui mekanisme adhesi, produksi EPS dan resistansi terhadap lingkungan ekstrem. Pengendalian biofilm tidak hanya dapat dilakukan melalui senyawa kimia seperti chlorhexidine, tetapi juga dengan memanfaatkan bahan alami kaya flavonoid dan terpenoid seperti ekstrak buah pinang, yang telah terbukti menghambat enzim Gtf dan disruptif terhadap matriks biofilm. Oleh

karena itu, eksplorasi senyawa herbal sebagai agen antibiofilm berbasis mekanisme mole-kuler (inhibisi GtfB, GtfC, GtfD atau Gbp) menjadi strategi potensial untuk pengembangan terapi alternatif pencegahan karies, sekaligus mengurangi efek samping dari bahan sintetik. Tujuan penelitian ini yaitu untuk membuktikan melalui skrining senyawa bioaktif buah pinang (*A. catechu* L) sebagai antibiofilm terhadap bakteri *S. mutans*. Harapannya tradisi menginang pada masyarakat tradisional memperoleh dukungan secara ilmiah untuk terus dipertahankan dan digalakkan.

METODE PENELITIAN

Uji *In Silico*

Bahan uji *in silico* menggunakan *ligand* dan *reseptor* berupa molekul virtual. Senyawa bioaktif buah pinang dikumpulkan melalui penelusuran literatur. Tiap-tiap senyawa dikonversi ke dalam format *Simplified Molecular-Input Line-Entry System* (SMILES), diubah ke struktur dua dimensi (2D) dan 3D. Reseptor yang digunakan adalah enzim terkait biofilm glucosyltransferase (Gtf) bakteri *S. mutants* yang diunduh melalui www.rcsb.org (pdb id. 3AIB). Uji *in silico* menggunakan *hardware* dengan spesifikasi: CPU Intel® Core (TM) i5- 2450 dan i7-8565U CPU @2.50 GHz, Windows 10 64-Bit Operation System, sedangkan *software* menggunakan aplikasi *Molecular Operating Environment* (MOE), yang dikembangkan oleh Chemical Computing Group, Inc. (Montreal, Canada dan Chimera 1.13.2, serta didukung beberapa web server seperti: <http://www.way2drug.com/PASSOnline/predict.php>; <http://stitch.embl.de>; <https://biosig.lab.uq.edu.au/pkcsim>; dan www.swissadme.ch.

Penelusuran Literatur Senyawa Bioaktif Buah Pinang

Studi literatur dilakukan sebagai langkah awal menelusuri kandungan senyawa bioaktif buah pinang. Penentuan potensi

senyawa bioaktif buah pinang sebagai antibiofilm terhadap bakteri *S. mutans* berdasarkan analisis *Quantitative Structure Activity Relationship* (QSAR) *Way2Drug Web server Prediction of Activity Spectra for Substances* (PASS) online (<http://www.way2drug.com/PASSOnline/predict.php>) digunakan sebagai perangkat prediksi aktivitas antibakteri *S. mutant* menggunakan data SMILES senyawa uji yang diunduh dari *Pub Chem*. Hasil penelusuran bioaktivitas senyawa ditampilkan berupa nilai *probable activity* (Pa) dan *probable inactivity* (Pi) antara 0,0-1,0. Jika suatu senyawa uji memiliki nilai $Pa > Pi$, diprediksi aktif sebagai antibakteri-antibiofilm. Semakin mendekati skor 1,0 menunjukkan prediksi aktivitas anti-bakteri-antibiofilm senyawa uji semakin valid (Filimonov *et al.*, 2014). Skor Pa antibakteri senyawa uji yang diprediksi ini diperoleh berdasarkan hasil analisis QSAR menggunakan aplikasi MOE terhadap sejumlah senyawa antibakteri yang tersedia secara *default* dalam database-nya. Semakin mirip struktur senyawa uji maka semakin tinggi nilai Pa yang dihasilkan. Hasil prediksi QSAR tersebut masih umum dan belum spesifik pada bakteri target *S. mutants*. Oleh karena itu dilakukan peneguhan target melalui website <http://stitch.embl.de>.

Molecular Docking

Dilakukan *molecular docking* terhadap senyawa bioaktif buah pinang terhadap enzim glucosyltransferase *Streptococcus mutans*. Sebelum proses *molecular docking* dijalankan, terlebih dahulu dilakukan validasi metode *docking* terhadap native ligand yang terikat dengan reseptor. Jika penyimpangan nilai *Root Means Square Deviation* (RMSD) *copy native ligand* terhadap *native ligand* $< 2 \text{ \AA}$, maka metode *docking* dinyatakan valid untuk digunakan pada *ligand* uji (Hambal *et al.*, 2022). Selanjutnya dilakukan optimasi *ligand* dan *reseptor* agar mendapatkan nilai *binding affinity* yang paling stabil dengan menambahkan atom hidrogen dan energi parsial serta meminimalisir energi *ligand* dan *reseptor* sekecil mungkin. Proses *docking* dilanjutkan mengikuti *binding site native ligand reseptor* 3AIB, sedangkan parameter *docking* lainnya mengikuti protokol *molecular*

docking MOE secara *default*. Data hasil *molecular docking* berupa energi bebas ($\Delta G_{\text{binding}}$) ditampilkan dalam tabel dan divisualisasikan menggunakan LigPlot MOE.

Analisis Data

Data ditabulasikan melalui tabel, ditampilkan melalui visualisasi gambar dan dianalisis dengan sistem *scoring*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dalam penelitian ini dilakukan skrining senyawa bioaktif buah pinang (*A. catechu* L.) yang berpotensi sebagai antibiofilm terhadap enzim glucosyltransferase bakteri *S. mutans*. Langkah awal uji digital dilakukan skrining literatur senyawa bioaktif apa saja yang telah dilaporkan dalam buah pinang. Berdasarkan skrining tersebut, berhasil diidentifikasi 36 senyawa yang terkandung dalam buah pinang seperti disajikan pada Tabel 1.

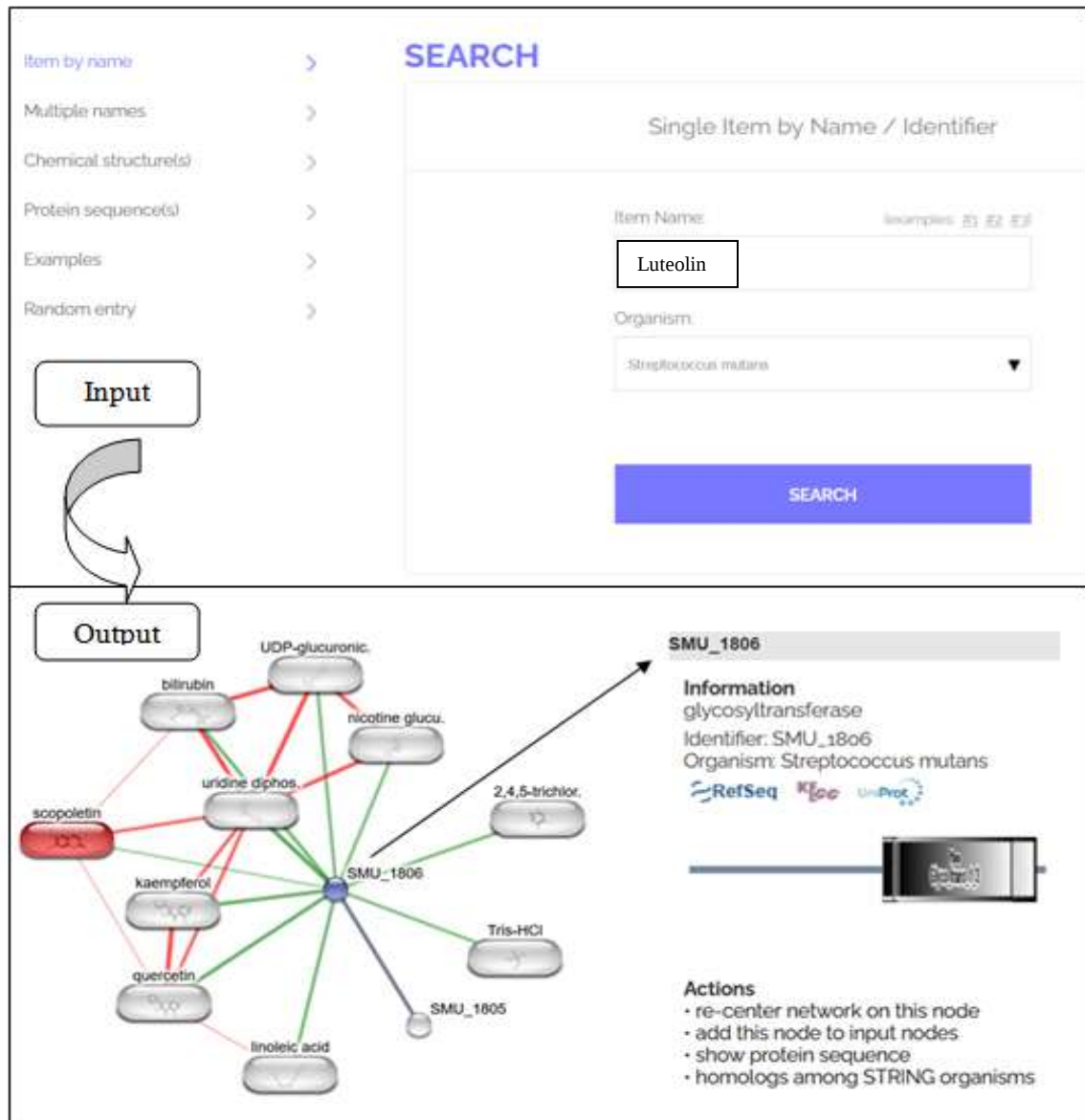
Potensi antibiofilm 36 senyawa bioaktif buah pinang terhadap enzim glucosyltransferase diprediksi melalui teknik QSAR Way2Drug/PASS. Sebanyak 29 senyawa diprediksi aktif dan tujuh sebaliknya. Rata-rata skor hambatan terhadap enzim glucosyltransferase ini diprediksi sebesar 0.486, 0.137, dan 0.173 masing-masing terhadap jenis gula dengan ikatan α -1,3-glucosidic; α -1,4-glucosidic; dan α -1,6-glucosidic (Bowen dan Koo, 2011; Ooshima *et al.*, 2001; Aoki *et al.*, 1986; Hanada *et al.*, 1988; Hanada *et al.*, 1989) (Tabel 2).

Target enzim glycosyltransferase hasil analisis QSAR belum spesifik terhadap bakteri *S. mutans*, sehingga perlu dikonfirmasi dengan menginput senyawa bioaktif buah pinang pada kotak pencarian yang disediakan web server <http://stitch.embl.de/>. Luteolin sebagai salah satu di antara 29 senyawa bioaktif buah pinang menunjukkan kemampuan inhibisinya terhadap enzim glycosyltransferase bakteri *S. mutants* (SMU_1806) seperti disajikan pada Gambar 1.

Tabel 1. Hasil skrining metabolit sekunder buah pinang (*Areca catechu*)

Kode	Senyawa	Struktur SMILE	Referensi
1	Isorhamnetin	<chem>COC1=C(C=CC(=C1)C2=C(C(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)O)O</chem>	Zhang <i>et al.</i> , 2009
2	Chrysoeriol	<chem>COC1=C(C=CC(=C1)C2=CC(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)O</chem>	
3	Luteolin	<chem>C1=CC(=C(C=C1C2=CC(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)O)O</chem>	
4	5-hydroxy-2-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)-7-methoxychroman 4-one	<chem>COC1=CC(O)=C2C(=O)CC(OC2=C1)C1=CC(OC)=C(O)C(OC)=C1</chem>	
5	(s)-5-hydroxy-2-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)-7-methoxychroman-4-one	<chem>COC1=CC(O)=C2C(=O)C[C@@H](OC2=C1)C1=CC(OC)=C(O)C(OC)=C1</chem>	Yang <i>et al.</i> , 2012
6	Liquiritigenin	<chem>C1C(OC2=C(C1=O)C=CC(=C2)O)C3=CC=C(C=C3)O</chem>	Wang <i>et al.</i> , 1993;
7	Arecatannin A1	<chem>C1C(C(OC2=C1C(=CC(=C2C3C(C(OC4=C(C(=CC(=C34)O)O)C5C(C(OC6=CC(=CC(=C56)O)O)C7=CC(=C(C=C7)O)O)O)C8=CC(=C(C=C8)O)O)O)O)C9=CC(=C(C=C9)O)O)O</chem>	
8	Arecatannin A3	<chem>C1C(C(OC2=C1C(=CC(=C2C3C(C(OC4=C3C(=CC(=C4C5C(C(OC6=C(C(=CC(=C56)O)O)C7C(C(OC8=C(C(=CC(=C78)O)O)C9C(C(OC1=CC(=CC(=C91)O)O)C1=CC(=C(C=C1)O)O)O)C1=CC(=C(C=C1)O)O)O)C1=CC(=C(C=C1)O)O)O)O)C1=CC(=C(C=C1)O)O)O)O)C1=CC(=C(C=C1)O)O)O</chem>	
9	Arecatannin B1	<chem>C1C(C(OC2=C1C(=C(C(=C2)O)C3C(C(OC4=C(C(=CC(=C34)O)O)C5C(C(OC6=CC(=CC(=C56)O)O)C7=CC(=C(C=C7)O)O)O)C8=CC(=C(C=C8)O)O)O)O)C9=CC(=C(C=C9)O)O)O</chem>	
10	Arecatannin B2	<chem>C1C(C(OC2=C1C(=C(C(=C2)O)C3C(C(OC4=C(C(=CC(=C34)O)O)C5C(C(OC6=C(C(=CC(=C56)O)O)C7C(C(OC8=C(C(=CC(=C78)O)O)C9C(C(OC1=CC(=CC(=C91)O)O)C1=CC(=C(C=C1)O)O)O)C1=CC(=C(C=C1)O)O)O)C1=CC(=C(C=C1)O)O)O)O)C1=CC(=C(C=C1)O)O)O</chem>	

		<chem>C(C=C1)O)O)O)C1=CC(=C(C=C1)O)O)O)C1=CC(=C(C=C1)O)O)O</chem>	Zhang <i>et al.</i> , 2008
11	Arecatannin C1	<chem>C1C(C(OC2=C1C(=CC(=C2C3C(C(OC4=C(C(=CC(=C34)O)O)C5C(C(OC6=CC(=CC(=C56)O)O)C7=CC(=C(C=C7)O)O)O)C8=CC(=C(C=C8)O)O)O)O)O)C9=CC(=C(C=C9)O)O)O</chem>	
12	cycloatanol	<chem>C1CCC(CC1)O</chem>	
13	ergosterol peroxide	<chem>CC(C)C(C)C=CC(C)C1CCC2C1(CCC3C24C=CC5(C3(CCC(C5)O)C)OO4)C</chem>	
14	β-sitostenone	<chem>CCC(CCC(C)C1CCC2C1(CCC3C2CCC4=CC(=O)CCC34C)C)C(C)C</chem>	Yang <i>et al.</i> , 2012
15	arecoline	<chem>COC(=O)C1=CCCN(C)C1</chem>	
16	arecaine	<chem>CN1CCC=C(C1)C(O)=O</chem>	Chinese
17	guvacoline	<chem>COC(=O)C1=CCN(C)C1</chem>	Academu
18	guvacine	<chem>C1CNCC(=C1)C(=O)O</chem>	of Medical
19	arecolidine	<chem>CN1CC(=C(C=C1)OC)OC</chem>	Sciences
20	homoarecoline	<chem>CCOC(=O)C1=CCCN(C)C1</chem>	1972; Jahn 1888;
21	isoguvacine	<chem>C1CNCC=C1C(=O)O</chem>	Huang and McLeish, 1989;
22	2,6-Di- <i>t</i> -butyl-4-methoxymethylphenol	<chem>CC(C)(C)C1=CC(=CC(=C1O)C(C)(C)C)COC</chem>	
23	Methyl cinnamate	<chem>COC(=O)C=CC1=CC=CC=C1</chem>	
24	Nonanoic acid	<chem>CCCCCCCCC(=O)O</chem>	
25	2,4-Di- <i>t</i> -butylphenol	<chem>CC(C)(C)C1=CC(=C(C=C1)O)C(C)(C)C</chem>	Zhou <i>et al.</i> , 2010
26	Benzoic acid	<chem>C1=CC=C(C=C1)C(=O)O</chem>	
27	Lauric acid	<chem>CCCCCCCCCCCCC(=O)O</chem>	
28	Myristic acid	<chem>CCCCCCCCCCCCC(=O)O</chem>	
29	Pentadecanoic acid	<chem>CCCCCCCCCCCCC(=O)O</chem>	
30	Palmitic acid	<chem>CCCCCCCCCCCCC(=O)O</chem>	
31	Stearic acid	<chem>CCCCCCCCCCCCC(=O)O</chem>	
32	Oleic acid	<chem>CCCCCCCCC=CCCCCCCCC(=O)O</chem>	
33	Linoleic acid	<chem>CCCCC=CCC=CCCCCCCCC(=O)O</chem>	
34	α-lipoic acid	<chem>C1CSSC1CCCCC(=O)O</chem>	
35	decanoic acid	<chem>CCCCCCCCC(=O)O</chem>	
36	α-maltose	<chem>C(C1C(C(C(C(O1)OC2C(OC(C(C2O)O)O)CO)O)O)O</chem>	



Gambar 1. Proses konfirmasi target luteolin sebagai salah satu senyawa bioaktif biji pinang (*Areca catechu* L.) terhadap enzim glycosyltransferase *S.mutans*

Tabel 2. Score prediksi antibiofilm 36 senyawa bioaktif buah pinang melalui teknik QSAR

Kode	Senyawa	α -1,6- gluco-sidic inhibitor	α -1,6- gluco-sidic inhibitor	α -1,6- gluco-sidic inhibitor
1	Isorhamnetin	-	-	0.118
2	Chrysoeriol	-	-	0.155
3	Luteolin	-	-	0.185
4	($\pm$)- 5-hydroxy-2-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)-7-methoxychroman 4-one	-	-	0.133
5	(s)-5-hydroxy-2-(4- hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)-7-methoxychroman-4-one	-	-	0.133
6	Liquiritigenin	-	0.051	0.246
7	Arecatannin A1	-	-	-
8	Arecatannin A3	-	-	-
9	Arecatannin B1	-	-	-
10	Arecatannin B2	-	-	-
11	Arecatannin C1	-	-	-
12	cycloatanol	0.295	0.227	0.677
13	ergosterol peroxide	-	-	-
14	β -sitostenone	-	-	-
15	Arecoline	-	-	0.222
16	Arecaine	0.048	0.088	0.479
17	guvacoline	-	0.049	0.222
18	Guvacine	0.060	0.118	0.479
19	arecolidine	-	-	0.211
20	homoarecoline	-	-	0.155
21	isoguvacine	0.060	0.118	0.479
22	2,6-Di-t-butyl-4-methylphenol	0.057	0.055	0.262
23	Methyl cinnamate	-	0.053	0.403
24	Nonanoic acid	0.426	0.157	0.540
25	2,4-Di-t-butylphenol	0.069	0.070	0.306
26	Benzoic acid	0.098	0.216	0.755
27	Lauric acid	0.426	0.157	0.540
28	Myristic acid	0.426	0.157	0.540
29	Pentadecanoic acid	0.426	0.157	0.540
30	Palmitic acid	0.426	0.157	0.540
31	Stearic acid	0.426	0.157	0.540
32	Oleic acid	0.248	0.110	0.421
33	Linoleic acid	0.211	0.099	0.378
34	α -lipoic acid	0.062	-	0.197
35	decanoic acid	0.426	0.157	0.540
36	α -maltose	0.932	0.873	0.887

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

Tabel 3. Data Fisikokimia 8 deskriptor 28 senyawa bioaktif biji pinang

Senyawa	QSA R Pred	AM1_ dipole	AM1_ homo	logS	mr	TPSA	glob	logP (o/w)
Isorhamnetin	0.12	5.63	-8.83	-3.19	7.76	116.45	0.09	2.30
Chrysoeriol	0.16	9.15	-7.61	-3.51	7.64	96.22	0.14	2.53
Luteolin	0.19	2.76	-9.05	-3.10	7.12	107.22	0.03	2.26
(±)- 5-hydroxy-2-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)-7-methoxychroman 4-one	0.13	5.31	-8.05	-2.97	8.84	94.45	0.33	2.63
(s)-5-hydroxy-2-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)-7-methoxychroman-4-one	0.13	1.39	-8.94	-2.97	8.84	94.45	0.23	2.63
Liquiritigenin	0.25	4.96	-9.50	-2.81	6.94	66.76	0.31	2.65
Cycloatan	0.68	1.72	-10.64	-0.86	2.97	20.23	0.30	1.58
Arecoline	0.22	2.97	-9.37	-0.44	4.32	29.54	0.12	0.23
Arecaine	0.48	3.05	-9.45	-0.03	3.81	40.54	0.21	-0.03
Guvacoline	0.22	3.13	-9.79	-0.31	3.87	38.33	0.07	-0.03
Guvacine	0.48	2.83	-9.54	0.10	3.36	49.33	0.08	-0.30
Arecolidine	0.21	2.47	-7.71	-0.59	4.35	21.70	0.06	0.50
Homoarecoline	0.16	2.90	-9.36	-0.77	4.78	29.54	0.12	0.58
Isoguvacine	0.48	2.46	-9.61	0.10	3.36	49.33	0.08	-0.30
2,6-Di-t-butyl-4-methylphenol	0.26	1.30	-8.30	-4.55	7.54	29.46	0.26	4.76
Methyl cinnamate	0.40	2.30	-9.49	-2.27	4.85	26.30	0.22	2.49
Nonanoic acid	0.54	1.84	-11.09	-2.89	4.67	37.30	0.12	3.05
2,4-Di-t-butylphenol	0.31	0.72	-8.38	-4.75	6.42	20.23	0.35	4.63
Benzoic acid	0.76	2.42	-10.08	-1.35	3.45	37.30	0.00	1.58
Lauric acid	0.54	1.85	-10.91	-4.43	6.06	37.30	0.08	4.37
Myristic acid	0.54	1.85	-10.85	-5.46	6.99	37.30	0.06	5.26
Pentadecanoic acid	0.54	1.88	-10.82	-5.98	7.45	37.30	0.06	5.70
Palmitic acid	0.54	1.86	-10.80	-6.49	7.91	37.30	0.05	6.14
Stearic acid	0.54	1.86	-10.77	-7.52	8.84	37.30	0.04	7.03
Oleic acid	0.42	1.84	-9.66	-6.99	8.81	37.30	0.03	6.08
Linoleic acid	0.38	1.93	-9.58	-6.77	8.77	37.30	0.03	5.48
α-lipoic acid	0.20	2.32	-8.19	-2.52	5.41	37.30	0.15	2.93
decanoic acid	0.54	1.84	-11.01	-3.40	5.14	37.30	0.11	3.49

Tabel 4. $\Delta G_{binding}$ dan Ikatan hidrogen 28 senyawa bioaktif biji pinang dan kontrol α -maltose

Kode	Senyawa	$\Delta G_{binding}$ Kcal/mol	Ikatan hidrogen
1	Isohamnetin	-12.54	Asp909
2	Chrysoeriol	-9.93	Asp 588
3	Luteolin	-9.26	Asp 909 (2)
4	($\pm$)- 5-hydroxy-2-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)-7-methoxychroman 4-one	-10.16	Asn 481, Asp 593, Tyr 430
5	(s)-5-hydroxy-2-(4- hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)-7-methoxychroman-4-one	-9.49	Ser 589 (2)
6	Liquiritigenin	-11.51	Asp 909
12	Cycloatanol	=6.47	Asp 477
15	Arecoline	-7.55	Gln 592
16	Arecaine	-5.73	Asp 477
17	Guvacoline	-5.81	Asp 588
18	Guvacine	-7.02	Asp 477
19	Arecolidine	-5.05	-
20	Homoarecoline	-5.19	Gln 592
21	Isoguvacine	-8.77	Asp 588, Gln 592, Asp 909
22	2,6-Di-t-butyl-4-methylphenol	-8.61	Gln 592
23	Methyl cinnamate	-6.38	-
24	Nonanoic acid	-8.90	Glu 515
25	2,4-Di-t-butylphenol	-12.03	Gln 592, Asp 909
26	Benzoic acid	-8.52	Gln 592, Asp 909, Asn 914, Asn 862
27	Lauric acid	-8.90	Asp 477
28	Myristic acid	-827	Gln 592, Asp 909, Asn 914
29	Pentadecanoic acid	-9.17	Asp 477
30	Palmitic acid	-10.44	Gln 592 (2), Asp 909
31	Stearic acid	-10.32	Gln 592, Asp 909, Asn 862 (2), Asn 914
32	Oleic acid	-8.75	Gln 592, Asp 909, Asn 862, Asn 914
33	Linoleic acid	-8.36	Asp 477
34	α -lipoic acid	-10.89	Gln 592, Asp 909 (2), Asn 914
35	Decanoic acid	-8.53	Gln 592, Asp 909, Asn 862, Asn 914
36	α -maltose	-11.44	Tyr 430 (2), ASN 481 (2), Glu 515

Tabel 5. Prediksi toksisitas senyawa senyawa bioaktif biji pinang berdasarkan analisis protox_ii

Kode	Senyawa	Prediksi LD ₅₀	Level toksisitas	Carcinogenicity	Hepatotoxicity
1	Isorhamnetin	5 g/kg	V	No	No
2	Chrysoeriol	4g/kg	V	No	No
3	Luteolin	3.92 g/kg	V	Yes	No
4	(±)- 5-hydroxy-2-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)-7-methoxychroman 4-one	2g/kg	IV	No	No
5	(s)-5-hydroxy-2-(4- hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)-7-methoxychroman-4-one	2g/kg	IV	No	No
6	Liquiritigenin	2g/kg	IV	Yes	No
12	Cycloatanol	1.4 g/kg	IV	No	No
15	Arecoline	500 mg/kg	IV	Yes	No
16	Arecaine	1g/kg	IV	Yes	No
17	Guvacoline	750 mg/kg	IV	Yes	No
18	Guvacine	1g/kg	IV	No	No
19	Arecolidine	16 mg/kg	II	No	No
20	Homoarecoline	1g/kg	IV	Yes	No
21	Isoguvacine	750 mg/kg	IV	No	No
22	2,6-Di-t-butyl-4-methylphenol	10.65 g/kg	VI	No	No
23	Methyl cinnamate	2.61 g/kg	V	No	No
24	Nonanoic acid	900 mg/kg	IV	No	No
25	2,4-Di-t-butylphenol	700 mg/kg	IV	No	No
26	Benzoic acid	290 mg/kg	III	No	Yes
27	Lauric acid	900 mg/kg	IV	No	No
28	Myristic acid	900 mg/kg	IV	No	No
29	Pentadecanoic acid	900 mg/kg	IV	No	No
30	Palmitic acid	900 mg/kg	IV	No	No
31	Stearic acid	900 mg/kg	IV	No	No
32	Oleic acid	48 mg/kg	II	No	No
33	Linoleic acid	10 g/kg	VI	No	No
34	α-lipoic acid	502 mg/kg	IV	No	No
35	Decanoic acid	900 mg/kg	IV	No	No
36	α-maltose	51 mg/kg	III	No	No

Tabel 6. Analisis skrining senyawa bioaktif buah pinang berdasarkan sistem skor

Kode	Senyawa	Poin Efek Farmakologi	Poin Interaksi	Poin keamanan	Total Poin
1	Isohamnetin	1	3	5	
2	Chrysoeriol	1	1	5	7
3	Luteolin	1	1	5	7
4	(±)- 5-hydroxy-2-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)-7-methoxychroman 4-one	1	1	4	6
5	(s)-5-hydroxy-2-(4- hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)-7-methoxychroman-4-one	1	1	4	6
6	Liquiritigenin	1	3	4	8
12	Cycloatanol	2	1	4	7
15	Arecoline	1	1	4	6
16	Arecaine	1	1	4	6
17	Guvacoline	1	1	4	6
18	Guvacine	1	1	4	6
19	Arecolidine	1	1	2	4
20	Homoarecoline	1	1	4	6
21	Isoguvacine	1	1	4	6
22	2,6-Di-t-butyl-4-methylphenol	1	1	6	8
23	Methyl cinnamate	1	1	5	7
24	Nonanoic acid	2	1	4	7
25	2,4-Di-t-butylphenol	1	3	4	8
26	Benzoic acid	3	1	3	7
27	Lauric acid	2	1	4	7
28	Myristic acid	2	1	4	7
29	Pentadecanoic acid	2	1	4	7
30	Palmitic acid	2	1	4	7
31	Stearic acid	2	1	4	7
32	Oleic acid	1	1	2	4
33	Linoleic acid	1	1	6	8
34	α-lipoic acid	1	1	4	6
35	decanoic acid	2	1	4	7
36	α-maltose	3	2	3	8

Keterangan: Prediksi efek $P_a > 0.7 = 3$; $0.5 < P_a < 0.7 = 2$; $P_a < 0.5 = 1$

Prediksi Interaksi: Energi bebas ($\Delta G_{\text{binding}}$) < standar = 1; Energi bebas ($\Delta G_{\text{binding}}$) < standar = 3; Energi bebas ($\Delta G_{\text{binding}}$) < standar = 2

Prediksi toksisitas berdasarkan nilai prediksi GHS dengan kriteria: 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

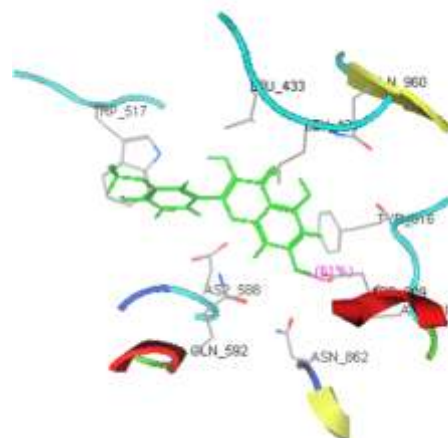
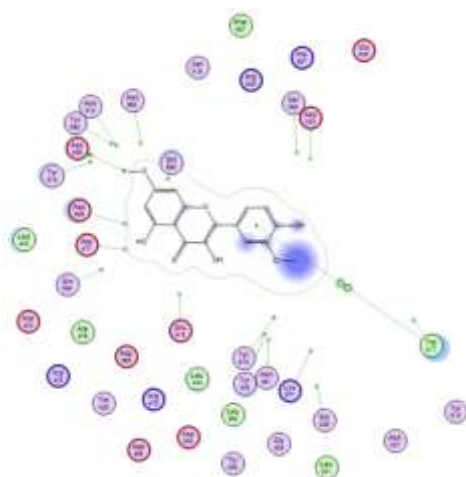
Kode
senya

Dua Dimensi (2D)

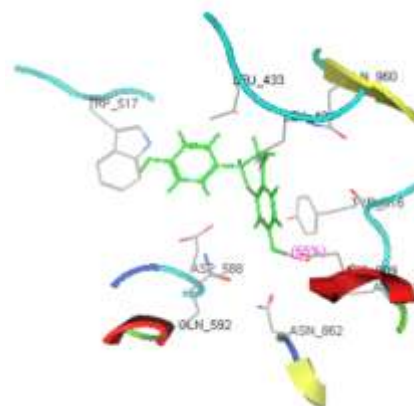
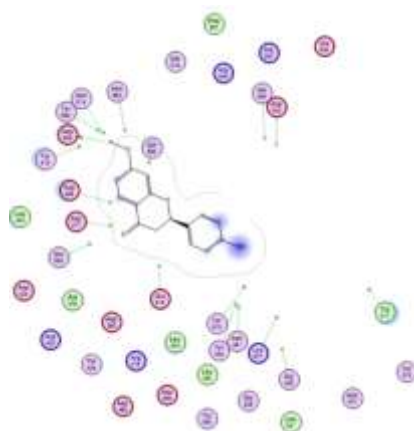
Tiga Dimensi (3D)

wa

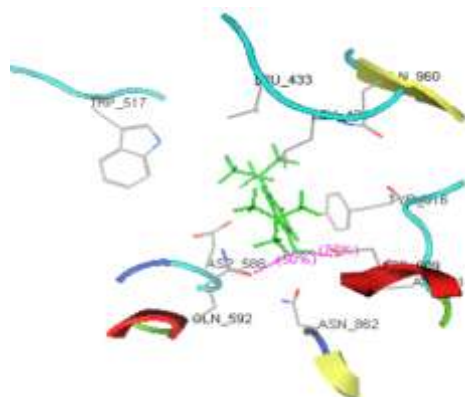
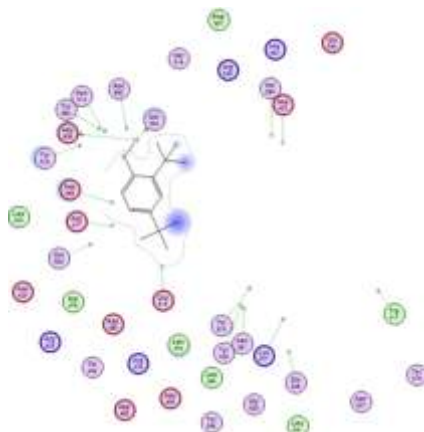
1



6



25



Gambar 3. Visualisasi struktur 2D dan 3D hasil molecular docking 3 senyawa bioaktif buah pinang (1,6,25) dengan afinitas terkuat dan kontrol α -maltose (36) sebagai inhibitor enzim Glucosyltransferase *Streptococcus mutan*

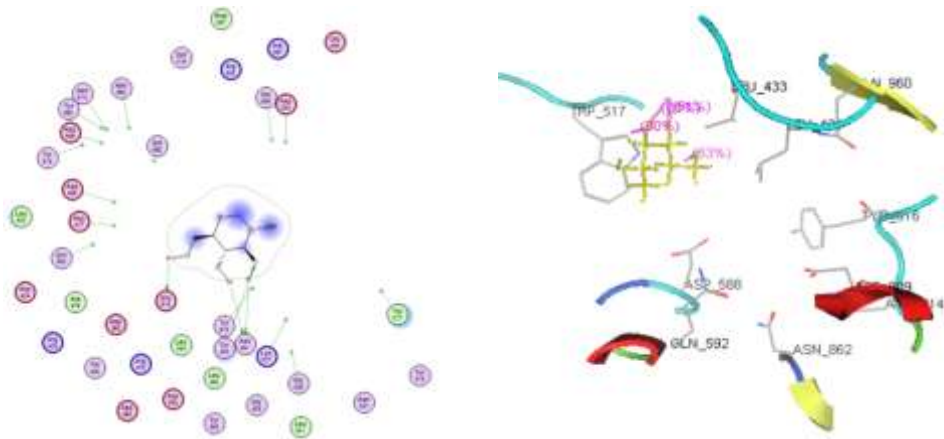
Kode

Dua Dimensi (2D)

Tiga Dimensi (3D)

senya
wa

36



Lanjutan
Gambar 3. Visualisasi struktur 2D dan 3D hasil molecular docking 3 senyawa bioaktif buah pinang (1,6,25) dengan afinitas terkuat dan kontrol α -maltose (36) sebagai inhibitor enzim Glucosyltransferase *Streptococcus mutan*

Tabel 7. Peran tujuh deskriptor penyusun persamaan QSAR berdasarkan analisis regresi berganda

Model		Coefficients ^a		t	Sig.
		Unstandardized Coefficients	Standardized Coefficients		
		B	Std. Error		
1	(Constant)	.015	.332	.045	.965
	am1_dipole	.002	.017	.014	.927
	am1_homo	-.071	.027	-.406	.016
	logP	.060	.080	.708	.464
	logS	-.023	.088	-.288	.799
	Tpsa	.001	.001	.196	.362
	Glob	.010	.277	.005	.972
	Mr	-.105	.039	-1.129	.014

a. Dependent Variable: Prediksi QSAR

Selanjutnya efek antibiofilm sebagaimana disajikan pada Tabel 2 tersebut ditelusuri karakteristik fisikokimianya. Parameter deskriptor yang digunakan mengacu pada laporan Frengki *et al.* (2019) yang meliputi tujuh deskriptor yang mewakili tiga parameter hidrofobik, elektronik dan sterik. Deskriptor meliputi parameter lipofilisitas seperti deskriptor logP dan logS; parameter elektronik seperti am1_homo dan am1_dipol; sedangkan parameter sterik menggunakan deskriptor seperti refraktivitas molar (mr), glob, dan tpsa. Selengkapnya data fisikokimia tersebut disajikan pada Tabel 3.

Model persamaan QSAR dirumuskan menggunakan SPSS dengan metode *Multiple Linear Regresion* (MLR). Analisis MLR ini melibatkan dua buah variabel, yaitu variabel bebas berupa data tujuh deskriptor dan variabel tergantung berupa aktivitas antibiofilm prediksi QSAR Way2Drug senyawa bioaktif buah pinang. Persamaan QSAR yang diperoleh adalah sebagai berikut,

$$Y = 0.015 + 0.002 (\text{am1_dipole}) - 0.071(\text{am1_homo}) + 0.06 (\text{logP}) - 0.023 (\text{logS}) + 0.001 (\text{tpsa}) + 0.01 (\text{glob}) - 0.105 (\text{mr})$$

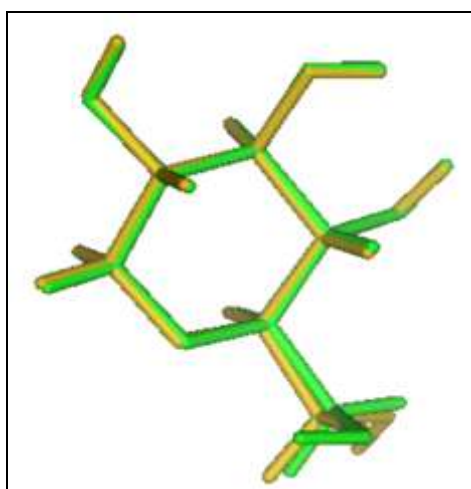
(Dengan nilai R= 0.890, R Square= 0.792, Adjusted R Square= 0.72 dan Std Error=

0.09761)

Docking Moleculer

Potensi antibiofilm hasil analisis QSAR terdapat 29 senyawa bioaktif buah pinang terhadap 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 oleh Ito *et al.* (2011). Parameter afinitas yang diamati adalah energi bebas ($\Delta G_{binding}$) yang menunjukkan nilai spontanitas reaksi dan kestabilan antara *ligand-reseptor*, semakin rendah $\Delta G_{binding}$ maka interaksi semakin kuat (Susanty *et al.*, 2021; Nainggolan *et al.*, 2023).

Sebelum pengujian terlebih dahulu dilakukan validasi metode *docking* terhadap *native ligand* α -maltose yang terkandung pada reseptor glucosyltransferase *S. mutans* (3AIB) dan diperoleh nilai RMSD sebesar 0.753 Å (Gambar 2), sehingga metode *docking* memenuhi syarat validitas dan dapat dilanjutkan untuk *docking* senyawa uji.



Gambar 2. Nilai RMSD native ligand α -maltose (yellow) terhadap copy ligand α -maltose (hijau) dengan score 0.753 Å

Selanjutnya *molecular docking* dilakukan terhadap 29 senyawa bioaktif buah pinang dan hal tersebut ditampilkan pada Tabel 4 dan Gambar 3. Selanjutnya prediksi toksisitas 29 senyawa bioaktif buah pinang ditelusuri menggunakan analisis protox, dan hal tersebut_ ditabulasikan pada Tabel 5.

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

Potensi 36 senyawa biokatif biji pinang sebagai antibiofilm menunjukkan 29 senyawa golongan flavonoid, terpenoid, alkaloid dan asam organik memiliki potensi daya hambat terhadap enzim glycosyltransferase bakteri *S. mutans*. Sebaliknya golongan tanin seperti arecatannin (A1, A3, B1, B2 dan C1) tidak memiliki daya hambat. Hal ini diduga akibat besarnya berat molekul golongan senyawa tannin yang membatasi kemampuannya masuk ke dalam ruang yang menjadi site binding reseptor target glycosyltransferase. Hanya senyawa yang memiliki berat molekul kecil yang mampu menyusup masuk ke ruang *site binding reseptor* target (Susanty *et al.*, 2021; Ramadhan *et al.*, 2020). Efek antibiofilm terkuat dimiliki oleh senyawa asam benzoat dengan skor Pa sebesar 0.775, kemudian cycloatanol dengan Pa 0.677, selanjutnya golongan asam organik seperti nanonoic acid, decanoic acid, lauric acid, myristic acid, pentadecanioc acid, palmitic acid dan stearic acid dengan skor Pa sebesar 0.540. Semakin mendekati angka 1 skor nilai Pa yang dimiliki maka potensi efek biologis semakin kuat (Filimonov *et al.*, 2014). Nilai skor Pa kontrol α -maltose sebesar 0.887, artinya tidak ada satupun senyawa bioaktif buah pinang yang memiliki efek antibiofilm yang lebih kuat dibandingkan kontrol α -maltose. Walaupun demikian mayoritas senyawa bioaktif buah pinang terbukti memiliki potensi sebagai antibiofilm. Berdasarkan persamaan QSAR, tujuh deskriptor yang digunakan, hanya deskriptor yang menunjukkan peran signifikan sebagaimana hasil analisis a pada Tabel 7.

Deskriptor yang berpengaruh signifikan ($P < 0.05$) dalam memberikan nilai efek hambatan terhadap reseptor glycosyltransferase (Tabel 7) hanya am1_homo yang

mewakili parameter elektronik dan deskriptor mr yang mewakili parameter sterik, sedangkan deskriptor yang lainnya tidak menunjukkan peran signifikan yang ditandai dengan nilai $p > 0.05$. Berdasarkan persamaan QSAR, ditunjukkan bahwa semakin positif nilai deskriptor am1_homo suatu *ligand* maka efek farmakologisnya akan semakin rendah, demikian juga semakin positif nilai deskriptor mr suatu *ligand* menyebabkan efek antibiofilm semakin rendah, sebaliknya semakin positif nilai deskriptor am1_homo dan deskriptor mr suatu *ligand* menyebabkan efek antibiofilm semakin tinggi. Pada Tabel 2 ditunjukkan bahwa nilai deskriptor am1_homo *ligand* benzoic acid adalah -10.08 dan deskriptor mr sebesar 3.45, sedangkan isorhamnetin memiliki nilai deskriptor am1_homo sebesar -8.83 dan nilai deskriptor mr sebesar 7.76. Jika kedua nilai deskriptor ini dimasukkan kedalam persamaan QSAR, maka benzoic acid akan memberikan nilai efek antibiofilm lebih kuat dibandingkan isorhamnetin, karena benzoic acid memiliki nilai deskriptor am1_homo dan nilai deskriptor mr lebih negatif dibanding isorhamnetin. Dengan demikian benzoic acid memiliki keelektronegatifan dan kecocokan sterik pada reseptor lebih besar dibanding isorhamnetin.

Hasil *molecular docking* berupa energi yang dibebaskan ($\Delta G_{\text{binding}}$) (kcal/mol) pascainteraksi *ligand* dengan reseptor. Semakin rendah nilai energi ikatan yang terbentuk, kekuatan pengikatan antara *ligand* dan *reseptor* semakin kuat. Hasil *docking molecular* senyawa uji menghasilkan nilai $\Delta G_{\text{binding}}$ pada rentang -5.05 kcal/mol hingga -12.54 kcal/mol (Tabel 4). Inhibitor enzim Gtf terkuat ditunjukkan oleh senyawa isorhamnetin dan 2,4-Di-t-butylphenol dengan $\Delta G_{\text{binding}}$ masing-masing sebesar -12.54 kcal/mol dan -12.03 kcal/mol. Keduanya merupakan turunan golongan phenol-flavonoid yang mengikat reseptor glicosiltransferase dengan masing-masing satu ikatan hidrogen (Asp 909) dan dua ikatan hidrogen (Asp 909 dan Gln 592). Keduanya memiliki afinitas lebih kuat dibanding kontrol α -maltose ($\Delta G_{\text{binding}}$ sebesar -11.44 kcal/mol) yang mengikat reseptor glicosiltransferase pada

asam amino Tyr 430 (2), Asn 481 (2), dan Glu 515.

Sebanyak 36 senyawa bioaktif buah pinang telah diskriminasi, diperoleh 29 senyawa yang diketahui memiliki aktivitas hambatan terhadap enzim glicosiltransferase. Sebanyak tujuh di antaranya termasuk golongan phenol-flavonoid, satu di antaranya (cyacatanol) merupakan golongan terpenoid, tujuh di antaranya adalah golongan alkaloid dan 13 lainnya merupakan golongan asam organik. Hambatan senyawa bioaktif dari tetumbuhan terhadap enzim glicosiltransferase telah dilaporkan beberapa literatur. Efek antibiofilm oleh golongan flavonoid seperti (-)-epigallocatechin gallate, dan (-)-epicatechin gallate telah dilaporkan (Hattori *et al.*, 1990; Otake *et al.*, 1991; Nakahara *et al.*, 1993). Demikian juga dengan golongan terpenoid jenis seskuiterpen teroksidasi seperti spathulenol dan trans-nerolidol juga telah dilaporkan memiliki aktivitas sebagai antibiofilm (Gilbert *et al.*, 2011; Lee *et al.*, 2014).

Kontrol α -maltose adalah jenis - yang terbukti memiliki efek antibiofilm kuat dengan skor Pa 0.887 dan afinitas dengan $\Delta G_{\text{binding}}$ sebesar -11.44 kcal/mol terhadap enzim glicosiltransferase. Molekul sakarida ini dianggap sebagai komponen terpenting suatu senyawa yang sangat menentukan efek hambatan dan kekuatan afinitas terhadap enzim glicosiltransferase. Senyawa 2"-O-rhamnosyl-swertisin yang mengikat satu molekul sakarida memiliki afinitas jauh lebih kuat dibandingkan swertisin. Hal yang sama juga terlihat pada senyawa 3-oxo- α -ionol-O- β -apiofuranosyl-(1" $\rightarrow$ 6')- β glucopyranoside yang mengandung dua molekul sakarida. Senyawa turunan terpenoid ini memiliki afinitas lebih kuat dibanding senyawa yang serupa (6S,9R)-roseoside (mengikat satu molekul sakarida) (belum dilaporkan). Analisis ini sejalan dengan laporan Candia-Scaffa *et al.* (2023) yang membuktikan potensi kuat acarbose, suatu senyawa oligosakarida (mengikat tiga molekul sakarida) sebagai inhibitor kuat enzim Gtf bakteri *S. mutans*.

Selanjutnya toksisitas 29 senyawa bioaktif buah pinang menggunakan para-

meter *Lethal dose* (LD₅₀) mol/kg, tingkat toksisitas dan potensi senyawa untuk memicu kanker (karsinogenik) serta kemampuannya dalam merusak hati (hepatotoksik) sebagai acuan penilaian toksisitas. Nilai LD₅₀ suatu bahan atau senyawa merupakan dosis yang dapat menimbulkan kematian pada 50% sekelompok hewan coba (Kesuma *et al.*, 2018). Berdasarkan Tabel 6 dapat diketahui hanya senyawa arecolidine (Level II) yang menunjukkan potensi lebih toksik dan hanya senyawa benzoic acid yang memiliki level toksisitas yang sama dibanding kontrol, yakni senyawa α -maltose (level III), sedangkan 26 senyawa lainnya menunjukkan potensi toksisitas lebih rendah. Walaupun demikian beberapa senyawa golongan flavonoid (luteolin dan liquiritenin) dan golongan alkaloid (arecoline, arecaine dan guvacine) berpotensi memicu pertumbuhan sel kanker, sedangkan 23 senyawa lainnya tidak menunjukkan potensi memicu pertumbuhan sel kanker dan atau merusak sel hati. Berdasarkan penjelasan tersebut diperoleh setidaknya lima senyawa bioaktif buah pinang yang memiliki potensi sebagai antibiofilm terhadap enzim glycosyltransferase bakteri *S. mutans* yang setara dengan kontrol α -maltose berdasarkan analisis skoring (Tabel 7). Walaupun prediksi hambatan lima senyawa bioaktif buah pinang terhadap enzim glycosyltransferase lebih rendah dibanding kontrol, namun isorhamnetin memiliki afinitas lebih baik dibanding dengan kontrol dan kelima senyawa tersebut dan jauh lebih aman dibanding kontrol α -maltose.

SIMPULAN

Berdasarkan tiga parameter, potensi antibiofilm yang dinilai dari 29 senyawa bioaktif buah pinang, diperoleh lima senyawa memiliki potensi setara atau bahkan lebih baik dari senyawa yang standar digunakan yakni α -maltose.

DAFTAR PUSTAKA

- Abebe GM. 2020. The Role of Bacterial Biofilm in Antibiotic Resistance and Food Contamination. *International Journal of Microbiology* 2020: 1705-1708. doi: 10.1155/2020/1705814.
- Aoki H, Shiroza M, Hayakawa S, Sato S, Kuramitsu HK. 1986. Cloning of a *Streptococcus mutans* glucosyltransferase gene coding for insoluble glucan synthesis. *Infectious and Immunology* 53: 587-594.
- Banas JA, Vickerman MM. 2003. Glucan-binding proteins of the oral streptococci. *Critical Review in Oral Biology and Medicine* 14: 89-99.
- Bowen WH, Koo H. 2021. Biology of *Streptococcus mutans* derived glucosyltransferases: Role in extracellular matrix formation of cariogenic biofilms. *Caries Research* 55(1): 68-81.
- Candia-Scaffa PM, Kendall A, Yudi-Icimoto M, Piovezan-Fugolin AP, Logan MG, DeVito-Moraes AH, Lewis S, Zhang H, Wu H, Pfeifer SC. 2023. The potential use of glycosyl-transferase inhibitors for targeted reduction of *S. mutans* biofilms in dental materials. *Scientific Reports* 13: 11889. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-39125-2>
- Díaz-Pascual F, Lempp M, Noshok K, Jeckel H, Jo JK, Neuhaus K, Hartmann R, Link H, Sourjik V, Thormann KM. 2023. Breakdown of *Vibrio cholerae* biofilm architecture induced by antibiotics and its impact on colonization. *Nature Communications* 14(1): 3301.
- Eliguzelolu E, Hacer D, Bagdagul H, Mine B, Huma O. 2011. Effect of different disinfectant methods on the initial microtensile bond strength of a self-etch adhesive to dentin. Van Türkiye. Faculty of Dentistry, Department of Restorative Dentistry, Van Yuzuncu Yil University. Hlm. 819-825
- Frengki F, Putra DP, Wahuni FS, Khambri D, Vanda H. 2019. Nfk β Inhibition Mechanism of Deoxyelephantopin and Isodeoxyelephantopin With Qsar and Molecular Docking. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* 10(7): 3228-

- 3233.
- Filimonov DA, Lagunin AA, Gloriovova TA, Rudik AV, Druzhilovskii DS, Pogodin PV. 2014. Prediction of the biological activity spectra of organic compounds using the pass online web resource. *Chemistry of Heterocyclic Compound* 50: 444–457. doi: 10.1007/s10593-014-1496-1
- Flemming H-C, Wingender J, Szewzyk U, Steinberg P, Rice SA, Kjelleberg S. 2023. Biofilms: Survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clinical Microbiology Reviews* 36(2): e00194-22. <https://doi.org/10.1128/cmr.00194-22>
- Garg A, Chaturvedi P, Gupta PC. 2023. Phytochemical profiling and nutritional composition of *Areca catechu* L. nut: Implications for traditional and pharmacological uses. *Journal of Ethno-pharmacology* 305: 116065.
- Gilabert M, Ramos AN, Schiavone MM, Arena ME, Bardoón A. 2011. Bioactive sesquind diterpenoids from the Argentine Liverwort *Porella chilensis*. *Journal of Natural Product* 74: 574–579.
- Hanada N, Kuramitsu HK. 1988. Isolation and characterization of *Streptococcus mutans* gtfC gene, coding for synthesis of both soluble and insoluble glucans. *Infectious and Immunology* 56(8): 1999-2005.
- Hanada N, Kuramitsu HK. 1989. Isolation and characterization of the *Streptococcus mutans* gtfD gene, coding for primer-dependent soluble glucan synthesis. *Infectious and Immunology* 57: 2079-2085.
- Hattori M, Kusumoto IT, Namba T, Ishigami T, Hara Y. 1990. Effect of tea polyphenols on glucan synthesis by glucosyltransferase from *Streptococcus mutans*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 38: 717-20
- Heliawati L, Lestari S, Hasanah U, Ajiati D, Kurnia D. 2022. Phytochemical Profile of Antibacterial Agents from Red Betel Leaf (*Piper crocatum* Ruiz and Pav) against Bacteria in Dental Caries. *Molecules* 27(9): 2861. doi: 10.3390/molecules27092861
- Hui X, Yan G, Tian FL, Li H, Gao WY. 2016. Antimicrobial mechanism of the major active essential oil compounds and their structure–activity relationship. *Medical Chemical Research* 26: 442–449. doi: 10.1007/s00044-016-1762-0.
- Ito K, Ito S, Shimamura T, Weyand SY, Misaka T, Abe K, Kobayashi T, Cameron AD, 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>
- Karatan E, Watnick P. 2009. Signals, regulatory networks, and materials that build and break bacterial biofilms. *Microbiology Molecular Biology Reviews* 73: 310-347
- Kayalvizhi DG, Suganya DG. 2016. Determining the Efficacy of *Ocimum sanctum* Leaves Extract on Cariogenic Properties of *Streptococcus mutans* - an *In Vitro* Study. *European Journal of Pharmaceutical* 3(3): 257- 264
- Kesuma D, Siswandono S, Purwanto BT, Hardjono S. 2018. Uji *in silico* Q-Aktivitas Sitotoksik dan Toksisitas Senyawa Turunan N-(Benzoil)-N'-feniltiourea Sebagai Calon Obat Antikanker. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Clinical Research* 3: 1
- Koga T, Okahashi N, Takahashi I, Kanamoto T, Asakawa H, Iwaki M. 1990. Surface hydrophobicity, adherence, and aggregation of cell surface protein antigen mutants of *Streptococcus mutans* serotype c. *Infection and Immunity* 58: 289-96.
- Lee K, Lee JH, Kim SI, Cho MH, Lee J. 2014. Anti-biofilm, anti-hemolysis, and antivirulence activities of black pepper, cananga, myrrh oils, and nerolidol against *Staphylococcus aureus*. *Journal of Applied Microbiology and Biotechnology* 98: 9447–9457
- Li M, Lai G, Wang J, Ye D. 2012. The inhi-

- bition of eugenol on glucan is essential for the biofilm eradication effect on caries-related biofilm in an artificial mouth model. *Natural Production Research* 26: 1152–1155. doi: 10.1080/14786419.2011.561799
- Marsh PD, Martin MV. 2009. *Oral Microbiology*. 5th ed. Luton UK. Churchill Livingstone
- Marsh PD, Zaura E. 2017. Dental Biofilm: Ecological Interactions in Health and Disease. *Journal of Clinical Periodontology* 44(S18): S12-S22.
- Matsumi Y, Fujita K, Takashima Y, Yanagida K, Morikawa Y, Matsumoto-Nakano M. 2015. Contribution of glucan-binding protein A to firm and stable biofilm formation by *Streptococcus mutans*. *Molecular Oral Microbiology* 30: 217-226.
- Matsumoto-Nakano M, Fujita K, Ooshima T. Comparison of glucan-binding proteins in cariogenicity of *Streptococcus mutans*. *Oral Microbiology and Immunology* 22: 30-35
- Mauri A; Consonni V, Todeschini R. 2017. *Molecular Descriptors. Handbook of Computational Chemistry*. Cham, Switzerland. Springer International Publishing. Hlm. 2065–2093. doi:10.1007/978-3-319-27282-5_51. 13
- Mira A, Simon-Soro A, Curtis MA. 2023. Role of microbial communities in the pathogenesis of periodontal diseases and caries. *Journal of Clinical Periodontology* 50(S26): 72-94.
- Moghaddam A, Ranjbar R, Yazdanian M, Tahmasebi E, Alam M, Abbasi K, Hosseini ZS, Tebyaniyan H. 2022. The Current Antimicrobial and Antibiofilm Activities of Synthetic/Herbal/Biomaterials in Dental Application. *of Biomedical Research International* 2: 8856025. doi: 10.1155/2022/8856025.
- 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 Journal of Pharmaceutical and Technology* 16(2): 885-892.
- Nakahara K, Kawabata S, Ono H, Ogura K, Tanaka T, Ooshima T, Hamada S. 1993. Inhibitory effect of olong tea polyphenols on glycosyltransferases of mutans Streptococci. *Applied and Environmental Microbiology* 59: 968-973.
- Nijampatnam B, Zhang H, Xia Cai X, Michael SM, Hui Wu H, and Velu SE. 2018. Inhibition of Streptococcus mutans Biofilms by the Natural Stilbene Piceatannol Through the Inhibition of Glucosyltransferases. *American Chemical Society Omega* 3(7): 8378–8385
- Ortega-Ramirez LA, Gutiérrez-Pacheco MM, Vargas-Arispuro I, González-Aguilar GA, Martínez-Téllez MA, Ayala-Zavala JF. 2020. Inhibition of Glucosyltransferase Activity and Glucan Production as an Antibiofilm Mechanism of Lemongrass Essential Oil against *Escherichia coli* O157:H7. *Antibiotics* 9:102. doi: 10.3390/antibiotics9030102
- Otake S, Makimura M, Kuroki T, Nishihara Y, Hirasawa M. 1991. Anticaries effects of polyphenolic compounds from Japanese green tea. *Caries Research* 25: 438-443.
- Ramadhan DSF, Fakhri TM, Arfan A. 2020. Activity Prediction of Bioactive Compounds Contained in Etlingera elatior Against the SARS-CoV-2 Main Protease: An In Silico Approach. *Borneo Journal of Pharmacy* 3(4). <https://doi.org/10.33084/bjop.v3i4.1634>
- Rohmawati I, Arfianto B, Ulfah M. 2018. Local Wisdom Nginang Sebagai Alternatif Oral Drugs Addict Treatment di Pusat Rehabilitasi Narkotika. In Seminar Nasional Sains & Entrepreneurship Vol 2018
- Roy K, Kar S, Das RN. 2015. *Chapter 1.2: What is QSAR? Definitions and Formalism. A primer on QSAR/QSPR*

- modeling: Fundamental Concepts*. New York. Springer-Verlag Inc. Hlm. 2-6.
- Sharma D, Misba L, Khan AU. 2023. Antibiotics versus biofilm: An emerging battleground in microbial communities. *Antimicrobial Resistance & Infection Control* 12(1): 15
- Susanty A, Dachriyanus D, Yanwirasti Y, 2021. Cytotoxic activity, and molecular docking of indole alkaloid voacangine and bisindole alkaloid vobtusine, vobtusine lactone from the Indonesian plant: *Voacanga foetida* (Blume) Rolfe. *Indonesian Journal of Pharmacy* 32(4): 442-453
- Sutana IG, Sinarsari NM, Dwipayana AP. 2021. Nginang: Kebiasaan Masyarakat Tradisional dalam Memelihara Kesehatan Gigi dan Mulut. *Jurnal Yoga dan Kesehatan* 4(2): 123-135
- Yang WQ, Wang HC, Wang WJ, Wang Y, Zhang XQ, Ye WJ. 2012. Chemical constituents from the fruits of *Areca catechu*. *Journal of Chinese Medicine Materials* 35: 400-403.
- Zhang Q, Ma Q, Wang Y, Wu H, Zou J. 2021. Molecular mechanisms of inhibiting glucosyltransferases for biofilm formation in *Streptococcus mutans*. *Review. International Journal of Oral Science* 13: 30
- Zhang L, Wang Y, Goel A, Wen Z. 2023. Nutrient trapping and recycling in biofilm systems: Mechanisms and applications. *Nature Reviews Microbiology* 21(5): 315-330
- Zhang X, Mei WL, Zeng YB, et al. 2009. A preliminary study on phenolic chemical constituents and antibacterial activity of areca. *Acta Tropical Subtropical Flora* 17: 74-76