

***Molecular Docking* Senyawa Bioaktif Ligan Ekstrak *Caulerpa racemosa* Agen Antibakteri Potensial terhadap Bakteri *Initial Colonizer Streptococcus mutans* dan *Veillonella parvula* pada Tahapan Pembentukan Biofilm Mulut**

Christopherous Diva Vivo¹, Citra Fragrantia Theodorea¹, Erik Idrus¹

¹Departement of Oral Biology, Faculty of Dentistry, Universitas Indonesia, Jakarta, Indonesia

ABSTRAK

Pendahuluan: Prevalensi masalah gigi (45,3%) dan gusi (14%) di Indonesia (Riskesmas 2018) yang tinggi disebabkan oleh kurangnya kesadaran untuk menjaga *oral hygiene* dengan baik.^{1,2} Diperlukan eksplorasi agen preventif untuk mendeaktivasi faktor virulensi dan menginhibisi perlekatan bakteri kolonisasi yang mengarah pada kondisi disbiosis mulut akibat ketidakseimbangan biota mulut dari pembentukan biofilm mulut.^{3,4} **Metode:** Studi *In Silico* dilakukan melalui proses *molecular docking*, untuk menguji interaksi biomolekuler antara ligan ekstrak *Caulerpa racemosa* terhadap reseptor bakteri *initial colonizer Streptococcus mutans* (AgI/II) dan *Veillonella parvula* (Aminotransferase Class I and II) pada tahapan awal pembentukan biofilm mulut (Salivary Agglutinin Glycoprotein (SAG) dan substrat asam oksaloasetat). Data numerik hasil komputasi *Command Prompt (Cmd)* sebagai *docking engine* dianalisis secara manual sebagai perbandingan daya inhibisi. **Hasil:** Didapati bahwa terdapat interaksi inhibisi terhadap reseptor bakteri *initial colonizer S. mutans* (Ag I/II) dan *V. parvula* (Aminotransferase Class I and II) saat di-*docking* dengan ligan *C. racemosa*. **Kesimpulan:** Ekstrak *C. racemosa* merupakan agen antibakteri potensial yang berkontribusi terhadap pengurangan daya adhesi bakteri *initial colonizer* terhadap biofilm mulut secara signifikan. Ada pun pemahaman berkaitan dengan aktivitas bakterisidal *C. racemosa* maupun toksisitasnya terhadap sel *host* perlu ditinjau lebih lanjut.

Kata kunci: Biofilm mulut, *Streptococcus mutans*, *Veillonella parvula*, *initial colonizer*, *Caulerpa racemosa*

PENDAHULUAN

Data Riset Kesehatan Dasar Nasional 2018 menyatakan bahwa terdapat prevalensi karies sebesar 88,8%, karies akar sebesar 56,5%, dan periodontitis sebesar 74,1% pada seluruh penduduk Indonesia.¹ Data tersebut menunjukkan bahwa prevalensi kasus masalah gigi-mulut di Indonesia masih sangat tinggi. Hal ini terjadi akibat dari kurangnya kesadaran masyarakat Indonesia untuk menjaga *oral hygiene* yang baik sehingga kondisi ekosistem mulut menjadi tidak seimbang dan menyebabkan pembentukan biofilm mulut yang tidak terkontrol.²

Metode penambatan molekuler menjadi tren penelitian modern berbasis teknologi komputasi yang dapat memprediksi interaksi ikatan antar molekul yang akan menghasilkan nilai proyeksi energi total ikatan antara protein (molekul di dalam atau di permukaan sel yang mengikat zat tertentu dan menyebabkan efek tertentu di dalam sel) dengan ligan (setiap molekul atau atom yang mengikat protein secara reversibel). Keuntungan penambatan molekuler ketimbang metode konvensional adalah kebutuhan energi dan waktu

yang singkat, serta biaya yang dibutuhkan cenderung ekonomis. Penerapan penambatan molekuler dapat menjembatani pencarian aktivitas baru dari suatu senyawa kimia yang telah mempunyai aktivitas tertentu namun belum aktif/ poten. Dengan demikian, prospek metode penambatan molekuler pada penelitian ini dimaksudkan untuk mempersingkat proses eksplorasi agen herbal potensial melalui penyaringan awal yang sangat cepat terhadap senyawa - senyawa kimia tertentu, terutama yang belum diketahui aktivitasnya dalam tanaman herbal / tradisional, serta dapat pula digunakan sebagai senyawa turunan maupun senyawa baru hasil sintesis.⁵

Streptococcus mutans merupakan agen etiologi utama karies termasuk ke dalam kelompok bakteri kolonisasi awal yang melekat di biofilm yang terbentuk pada permukaan gigi yang dikenal sebagai plak gigi.^{6,7} *S. mutans* merupakan bakteri kariogenik dengan kemampuan asidurik (tumbuh dalam lingkungan pH rendah atau tekanan lingkungan yang tinggi) dan bersifat asidogenik (mengangkut dan memetabolisme

berbagai karbohidrat menjadi asam organik) dalam mensintesis sejumlah besar polimer ekstraseluler glukosa dari sukrosa dan berkolonisasi secara ireversibel terhadap permukaan keras dan dalam pengembangan matriks polimer ekstraseluler in situ.⁸ *S. mutans* memiliki beberapa adhesin permukaan dengan afinitas tinggi yang memungkinkan kolonisasi bahkan tanpa bergantung pada keberadaan sukrosa. Salah satu adhesin yang paling banyak dipelajari adalah antigen ganda I/II, yang dikenal sebagai *AgI/II*, *PI*, *SpaP*, atau *Pac*. Adhesin multifungsi yang kompleks secara struktural ini memediasi perlekatan bakteri ke pelikel saliva gigi melalui interaksi dengan reseptor pengais glikoprotein *GP340 (SAG)* atau *DMBT-1* yang terletak pada saliva. Adhesin keluarga *AgI/II* juga berinteraksi dengan bakteri lain dan protein inang seperti fibronektin dan kolagen.^{9,10}

Dalam ikatan adhesi *S. mutans* dengan pelikel / plak, bakteri *Veillonella parvula* mengolah sumber karbon yang didapat dari hasil produksi asam laktat *Streptococcus mutans*.¹¹ Asam laktat tersebut menghambat pertumbuhan banyak komensal oral yang sensitif terhadap asam. Dari sana, peran *V. parvula* sebagai agregator untuk menyerap asam dan mengubahnya menjadi asam yang lebih lemah berupa asam asetat dan asam propionat terjadi^{7,12,13}, dengan tujuan agar *dental biofilm* tidak mencapai pH yang terlalu rendah, kondisi pH yang terlalu rendah juga dinyatakan dapat menghambat pertumbuhan *S. mutans*, sehingga malah memberikan dampak yang malah merugikan bagi *S. mutans*.¹⁴ Dengan demikian, proses fermentasi bakteri *V. parvula* sebagai bahan makanan dan memberikan efek simbiosis bagi *S. mutans* untuk memiliki kondisi adekuat dari laju metabolisme yang terkendali (kadar pH yang tidak terlalu asam).^{7,12,13} Dewasa ini, Indonesia dengan keberagaman hayati yang melimpah, memiliki potensi besar dalam memanfaatkan berbagai agen herbal yang bersifat preventif terhadap proses pembentukan biofilm mulut, bahkan dapat menjaga keseimbangan oksidan mulut karena kandungan antioksidan yang tinggi, seperti *polyphenol*, *flavonoid*, dan *caulerpin* yang berperan dalam mengimbangi produksi radikal bebas dalam mulut. Potensi tanaman air sebagai bahan obat herbal baru-baru ini mulai diteliti, seperti halnya tanaman anggur laut (*Caulerpa racemosa*) yang potensial kebermanfaatannya.^{3,4} Telah diketahui bahwa *SAG* sebagai kunci perlekatan adhesin *AgI/II* dapat terblokir dengan adanya keberadaan agen inhibitor seperti *Piperazine (ZI-187)* dengan kontrol positif berupa klorheksidin, yang telah menghasilkan daya inhibisi lewat interaksi biomolekuler dengan berikatan pada reseptor *AgI/II S. mutans*, sehingga tidak terjadi perlekatan adhesin pada permukaan gigi tempat *SAG* berada.¹⁵ Dengan demikian, berdasarkan penelitian terdahulu, dapat diproyeksikan bahwa

potensi dari metabolit anggur laut perlu diteliti melalui peranannya sebagai *AgI/II* Inhibitor pencegah terjadinya perlekatan biofilm mulut dan menunjukkan manifestasi berkurangnya kolonisasi bakteri *S. mutans*.^{8,15}

Hubungan simbiosis dari *V. parvula* yang bergantung pada asam laktat hasil metabolisme *S. mutans* sangatlah esensial bagi *V. parvula* untuk mengolahnya menjadi bahan makanan lewat proses fermentasi. Telah diketahui bahwa, tanpa keberadaan substrat asam oksaloasetat, enzim aminotransferase bakteri *V. parvula* tidak dapat memproses reaksi dua arah dari pertukaran hidrogen malat dan laktat (*malic-lactic transhydrogenase reaction*) lewat proses glukoneogenesis-glikolisis yaitu reaksi dua arah antara senyawa oksaloasetat dan laktat menjadi piruvat dan malat.¹⁶ Kondisi blokade keberadaan substrat oksaloasetat pada enzim aminotransferase *V. parvula* akan menanggulangi proses simbiosis kedua bakteri karena pengolahan asam laktat *S. mutans* tidak dapat dilakukan tanpa keberadaan substrat oksaloasetat pada proses enzimatik.¹⁶ Dari dampak yang terjadi, proyeksi berupa gangguan *quorum-sensing (QS)*, inaktivasi faktor virulensi *V. parvula* untuk bermetabolisme, bahkan diprediksi ada potensi bakterisidal dari penghambatan proses kolonisasi yang menyebabkan bakteri tidak dapat memperbanyak diri karena interaksi dengan *S. mutans* juga terganggu (kondisi pH yang terlalu asam (keberadaan asam laktat yang berlebih) menyebabkan penurunan laju metabolisme *S. mutans* pada biofilm tanpa adanya agregator pH (*V. parvula*)).^{7,12,13}

Dengan demikian, diperlukan eksplorasi aktivitas dan daya inhibisi komponen metabolit anggur laut lewat interaksi biomolekuler terhadap reseptor *AgI/II* bakteri *S. mutans* dan reseptor enzim *aminotransferase class I and II V. parvula* sebagai *initial colonizer* pada tahapan awal pembentukan biofilm mulut melalui uji *in silico* untuk memblokir jalur perlekatan *S. mutans* dalam pembentukan biofilm, menghentikan proses kolonisasi, maupun menghentikan aktivitas metabolisme *V. parvula* lewat potensi bakterisidal ligan uji.

Indeks akumulasi plak kaitannya dengan pembentukan *dental biofilm* dikategorikan dalam ilmu periodontologi melalui indeks *Greene and Vermillion* (1964), yang diobservasi secara visual. Dalam hal tersebut, kontrol pertumbuhan plak dari penelitian ini memerlukan observasi ekspresi biokimia secara keseluruhan. Dengan demikian, studi *in silico* yang menjadi jembatan proyeksi ekspresi biomolekuler masih perlu divalidasi melalui desain studi lanjutan *in vitro* dan *in vivo* untuk meninjau lebih lanjut, dampak dan efek interaksi biomolekuler yang sudah diintervensi dalam penelitian.¹⁷

METODE

Perangkat Keras dan Lunak

Komputer pribadi dengan spesifikasi prosesor *Intel(R) Core(TM) i5-8265U CPU @ 1.60GHz (8 CPUs), ~1.8GHz* dengan kartu grafis *NVIDIA GeForce MX150*, serta RAM 12 GB DDR4 lewat sistem operasi *Windows 11* yang dilengkapi dengan perangkat lunak berikut untuk studi *in silico*:

1. Program *ChemOffice 2010* dan *ChemDraw Ultra 12.0* (*Perkin Elmer Inc.*, diunduh di <http://www.cambridgesoft.com/>) yang digunakan untuk menggambar struktur 2D dan struktur 3D.
2. Program *BIOVIA Discovery Studio Visualizer v.21* untuk purifikasi reseptor, visualisasi kompleks PDB, serta melihat ikatan antara ligan dan reseptor.
3. Program *AutoDock 4.2.6* dan *AutoDockTools 1.5.6* (*The Scripps Research Institute*, diunduh di <http://www.autodock.scripps.edu/>) untuk melakukan simulasi penambatan molekuler.
4. Program *Command prompt (cmd.exe)* dari *Microsoft* sebagai *docking engine* simulasi penambatan molekuler.

Akuisisi Struktur Reseptor Bakteri *S. mutans*

Struktur 3D Reseptor *AgI/II* diunduh melalui *Protein Data Bank (PDB)* (<https://www.rcsb.org/>) dengan kode PDB ID: 3IPK. Lalu, *AgI/II* difusikan dengan molekul *AgI/II Inhibitor*. Kemudian, dalam proses purifikasi, dilakukan pemisahan kompleks menggunakan *BIOVIA Discovery Studio Visualizer v.21*.

Piperazine (ZI-187) yang merupakan kontrol positif dipilih sebagai ligan pembanding yang telah terbukti inhibisinya terhadap *AgI/II* dengan perbandingan terhadap senyawa klorheksidin tanpa adanya aktivitas hepatoksisitas, kariogenisitas, imunotoksisitas, maupun mutagenisitas, yang menghasilkan energi ikatan terendah -10,7 kkal/mol pada perlekatan terhadap *AgI/II* (PDB ID: 3IPK).

Akuisisi Struktur Reseptor Bakteri *V. parvula*

Struktur 3D Reseptor *Aminotransferase Class I and II* diunduh melalui *Protein Data Bank (PDB)* (<https://www.rcsb.org/>) dengan kode PDB ID: 3RQI. Lalu, *Aminotransferase Class I and II* difusikan dengan substrat asam oksaloasetat. Kemudian, dalam proses purifikasi, dilakukan pemisahan kompleks menggunakan *BIOVIA Discovery Studio Visualizer v.21*.

Asam oksaloasetat dipilih sebagai ligan asal karena merupakan substrat kunci yang tanpa keberadaannya akan memutus jalur reaksi glukoneogenesis-glikolisis bakteri *V. parvula* dalam berfermentasi mengolah asam laktat *S. mutans* sesuai proses reaksi enzimatis

yang terjadi, dan akan diblokade lewat uji inhibisi dari penambatan reseptor enzim aminotransferase dengan ligan anggur laut.

Akuisisi Struktur Ligan Uji

Kandidat ligan uji yang dipilih berdasarkan kuantifikasi terbanyak sesuai dengan data hasil uji metabolit penelitian terdahulu ekstrak anggur laut [Tabel 1]. Kemudian, Struktur 3D ligan *C. racemosa* diunduh melalui *PubChem* (<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>).

Simulasi Penambatan Molekuler

Reseptor dan ligan dipreparasi menggunakan program *Autodock Tools v.1.5.7*. Kemudian, reseptor diberi tambahan muatan *Kollman* dan polar hidrogen lalu disimpan dalam format *pdbqt*. Muatan *gasteiger* dihitung pada ligan uji. Ukuran kubus *grid* diatur menjadi $56 \times 50 \times 50$ dengan koordinat $x = 8,997$; $y = 35,800$; $z = 27,734$ pada reseptor bakteri *S. mutans* dan dimensi kubus *grid* $40 \times 40 \times 40$ dengan koordinat $x = -14,709$; $y = -18,822$; $z = 104,449$ pada bakteri *V. parvula*. Uji algoritma genetika diatur sebanyak 100 kali pengulangan simulasi tanpa mengubah parameter apapun dari pengaturan. *Command prompt (cmd.exe)* digunakan sebagai *docking engine* secara otomatis untuk memulai simulasi penambatan molekuler. Hasil penambatan molekuler ligan dan reseptor berupa data numerik dianalisis dan diinterpretasikan secara manual melalui program file tipe *notepad* dan ikatan asam amino antara ligan dan reseptor divisualisasikan dan diinterpretasikan melalui program *BIOVIA Discovery Studio Visualizer v.21*.

HASIL

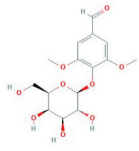
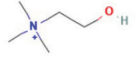
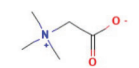
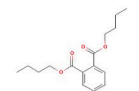
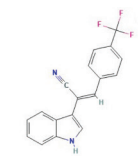
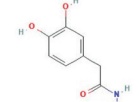
Pada percobaan interaksi biomolekuler bakteri *S. mutans*, ligan *ZI-187* dari kompleks protein *AgI/II* disambungkan kembali pada reseptor *AgI/II* murni untuk memvalidasi parameter penambatan molekuler. Nilai yang terukur berupa *Root Mean Square Deviation (RMSD)* yang menunjukkan perpindahan posisi dari pose awal *ZI-187* ke posisi validasi pose setelah disambungkan kembali dengan *AgI/II*. Hasil simulasi menunjukkan bahwa nilai *RMSD* dari validasi penambatan molekul adalah 0,17 Å.

Pada percobaan interaksi biomolekuler bakteri *V. parvula*, ligan asam oksaloasetat dari kompleks protein *Aminotransferase Class I and II* disambungkan kembali pada reseptor

Aminotransferase Class I and II murni untuk memvalidasi parameter penambatan molekuler. Nilai yang terukur berupa *Root Mean Square Deviation (RMSD)* yang menunjukkan perpindahan posisi dari pose awal asam oksaloasetat ke posisi validasi pose setelah disambungkan kembali dengan *Aminotransferase Class I and II*. Hasil simulasi

Molecular Docking Senyawa Bioaktif Ligan Ekstrak *Caulerpa racemosa* Agen Antibakteri Potensial terhadap Bakteri *Initial Colonizer Streptococcus mutans* dan *Veillonella parvula* pada Tahapan Pembentukan Biofilm Mulut

Tabel 1. Struktur Kimia Penggambaran Senyawa Ligan Mayor *C. racemosa*.^{18–23}

No.	Senyawa (PubChem ID)	Struktur
1	3-[3-(beta-D-Glucopyranosyloxy)-2-hydroxyphenyl]propanoic acid (BGPA) (PubChem ID: 54571662) ¹⁸	
2	Kolin (PubChem ID: 305) ²²	
3	Betain (PubChem ID: 247) 20	
4	Dibutil ftalat (PubChem ID: 3026) ²¹	
5	2-(1H-indol-3-yl)-3-[4-(trifluoromethyl)phenyl]acrylonitrile (ITPA) (PubChem ID: 5716748) ¹⁹	
6	2-(3,4-dihydroxyphenyl)acetamide (DPA) (PubChem ID: 70795) ²³	

Tabel 2. Parameter Hasil Penambatan Molekuler Ligan *C. racemosa* dengan AgI/II *S. mutans*.

Target	ΔG (kcal/mol)	Ki (Konsentrasi Inhibisi)	Interaksi Ligan-Target	
			Interaksi Hidrogen	Van der Waals
Kolin	-3,52	2,63 mM	Ser697, Trp816	Asn699, Ile815
Betain	-3,91	1,36 mM	Asn699, Ser704	Ala787, Lys812, Asn814, Ile815
Dibutil ftalat	-6,70	12,18 μ M	Ser697, Asn699, Glu706, Ile815, Trp816	Asp554, Glu701, Ser704, Met749, Asn814
BGPA	-6,68	12,76 μ M	Asp554, Ser697, Asn699, Glu701, Glu706, Lys811, Asn814, Ile815, Trp816	Phe656, Ser704, Ala787, Lys812
ITPA	-6,77	10,93 μ M	Val587, Thr586, Asp554	Gln552, Ser697, Ser761, Ser762, Arg824, Asp760
DPA	-5,24	144,55 μ M	Asn699, Glu701, Ser704, Glu706, Lys811, Asn814, Trp816	Ser697, Ala787, Lys812

Tabel 3. Parameter Hasil Penambatan Molekuler Ligan *C. racemosa* dengan *Aminotransferase Class I and II V. parvula*.

Target	ΔG (kcal/mol)	Ki (Konsentrasi Inhibisi)	Interaksi Ligan-Target	
			Interaksi Hidrogen	Van der Waals
Kolin	-2,03	32,76 mM	Asp222, Tyr225	Gly108, Trp133, Tyr136, Asn188, Ala224, Ser256, Lys259, Phe357
Betain	-4,07	1,04 mM	Trp133, Arg267	Ile18, Phe19, Thr41, Leu42, Gly43, Tyr73, Asn188, Phe357
Dibutil ftalat	-4,39	608,94 μ M	Lys256, Arg267	Ile18, Phe19, Leu42, Gly43, Tyr73, Gly108, Thr109, Asn183, Asn188, Asp222, Val223, Tyr255, Ser256, Ser258, Arg293, Phe357, Arg387
BGPA	-5,94	44,22 μ M	Leu42, Tyr136, Asn183, Asp222, Lys259, Arg267, Arg293	Ile18, Phe19, Thr41, Leu42, Gly43, Tyr73, Gly108, Asn188, Ser256, Ser258, Phe357, Arg387
ITPA	-5.80	55,71 μ M	Gly108, Ala224, Tyr225, Ser256, Arg267	Ile18, Phe19, Leu42, Gly43, Tyr73, Val223, Cys254, Tyr255, Ser258, Phe357, Arg387
DPA	-5.32	126,49 μ M	Trp133, Arg225, Arg267, Arg367	Ile18, Leu42, Gly43, Asn188, Phe357

menunjukkan bahwa nilai *RMSD* dari validasi penambatan molekul adalah 0,7 Å. Suatu pose dalam penambatan molekul dikatakan valid dan baik ketika nilai *RMSD* ≤ 2 Å.

Hasil simulasi penambatan molekul ligan *C. racemosa* yang telah lolos seleksi profil metabolomik dengan *AgI/II* ditunjukkan pada [Tabel 2] dan pada *Aminotransferase Class I and II* ditunjukkan pada [Tabel 3].

DISKUSI

Terdapat empat parameter yang dipertimbangkan untuk menandakan keberadaan interaksi antar reseptor dengan ligan serta menentukan afinitas ikatan yaitu ΔG , konsentrasi inhibisi, ikatan hidrogen, dan interaksi *van der Waals*. Berdasarkan Tabel 2 dan Tabel 3, terlihat bahwa terdapat interaksi yang terjadi antar *AgI/II* dan *Aminotransferase Class I and II* dengan ligan *C. racemosa*.

Dari hasil yang didapat pada Tabel 2 terlihat bahwa ITPA (-6,77 *kcal/mol*) memiliki nilai ΔG yang paling

tinggi dibandingkan dengan kelima ligan mayor anggur laut lainnya, dengan perbandingan kontrol positif Piperazine (ZI-187) (-10,7 *kcal/mol*). Dengan

adanya interpretasi energi bebas Gibbs negatif, terbukti bahwa pada interaksi yang terjadi antara ITPA dan ligan mayor ekstrak anggur laut lainnya, terdapat daya inhibisi terhadap *AgI/II*.

Dari hasil yang didapat pada Tabel 3 terlihat bahwa BGPA (-5,94 *kcal/mol*) memiliki nilai ΔG yang paling tinggi dibandingkan dengan kelima ligan mayor anggur laut lainnya, dengan perbandingan ligan asal asam oksaloasetat (-7,68 *kcal/mol*). Dengan adanya interpretasi energi bebas Gibbs negatif, terbukti bahwa pada interaksi yang terjadi antara BGPA dan ligan mayor ekstrak anggur laut lainnya, terdapat daya inhibisi terhadap *Aminotransferase Class I and II*. Semakin negatif nilai ΔG , ikatan yang terbentuk semakin stabil. Sehingga afinitas ikatan antara ligan dengan reseptor juga semakin baik.

KESIMPULAN

Terdapat interaksi biomolekuler berupa adanya daya inhibisi antara ligan *C. racemosa* dengan *AgI/II* milik *S. mutans* dan *Aminotransferase Class I and II* milik *V. parvula* dan terdapat afinitas ikatan yang ditandai oleh adanya energi bebas Gibbs (ΔG), konsentrasi inhibisi (K_i), ikatan hidrogen dan ikatan *van der Waals*. Dari keenam ligan *C. racemosa* tersebut, yang

memiliki afinitas ikatan terbaik dengan *AgI/II* adalah ITPA dengan $\Delta G = -6,77$ (kcal/mol), dan disertai hasil penambatan molekuler dengan *Aminotransferase Class I and II*, yaitu BGPA dengan $\Delta G = -5,94$ (kcal/mol).

Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini didukung dan didanai oleh Departemen Biologi Oral Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia dengan Hibah Publikasi Terindeks Internasional (PUTI) Q2 Tahun Anggaran 2022 2023 (Batch 2) Nomor: NKB-1269/UN2.RST HKP.05.00/2022.

REFERENSI

1. Tim Riskesdas Kementrian Kesehatan RI 2018. Laporan Nasional Riskesdas 2018. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Jakarta: Lembaga Penerbit Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan; 2018. 204 p.
2. Kementerian Kesehatan RI. Infodatin Kesehatan Gigi Nasional. Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI. 2019;1–6.
3. Rahardjo A, Maharani DA. A Review of Indonesia's Dental Health - Past, Present and Future. International Journal of Clinical Preventive Dentistry. 2014 Sep 30;10(3):121–6.
4. Permatasari HK, Nurkolis F, Vivo CD, Noor SL, Rahmawati R, Radu S. Sea grapes powder with the addition of tempe rich in collagen: An anti-aging functional food. F1000Res. 2022;
5. Automated docking using a Lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function - Morris - 1998 - Journal of Computational Chemistry - Wiley Online Library [Internet]. [cited 2022 Nov 25]. Available from: [https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/\(SICI\)1096-987X\(19981115\)19:14%3C1639::AID-JCC10%3E3.0.CO;2-B](https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/(SICI)1096-987X(19981115)19:14%3C1639::AID-JCC10%3E3.0.CO;2-B)
6. Krzyściak W, Jurczak A, Kościelniak D, Bystrowska B, Skalniak A. The virulence of *Streptococcus mutans* and the ability to form biofilms. European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. 2014 Oct 24;33(4):499–515.
7. Mashima I, Nakazawa F. The influence of oral *Veillonella* species on biofilms formed by *Streptococcus* species. Anaerobe. 2014;28:54–61.
8. Lemos JA, Palmer SR, Zeng L, Wen ZT, Kajfasz JK, Freires IA, et al. The Biology of *Streptococcus mutans*. Microbiol Spectr. 2019 Jan 1;7(1).
9. Lemos JA, Palmer SR, Zeng L, Wen ZT, Kajfasz JK, Freires IA, et al. The Biology of *Streptococcus mutans*. Microbiol Spectr. 2019 Jan 1;7(1).
10. Larson MR, Rajashankar KR, Crowley PJ, Kelly C, Mitchell TJ, Brady LJ, et al. Crystal structure of the C-terminal region of *Streptococcus mutans* antigen I/II and characterization of salivary agglutinin adherence domains. Journal of Biological Chemistry. 2011 Jun 17;286(24):21657–66.
11. Dewhirst FE, Chen T, Izard J, Paster BJ, Tanner ACR, Yu WH, et al. The human oral microbiome. J Bacteriol. 2010 Oct;192(19):5002–17.
12. Steed P. Essential microbiology for dentistry, fifth edition. British Dental Journal 2019 227:3. 2019 Aug 9;227(3):183–183.
13. Liu S, Chen M, Wang Y, Zhou X, Peng X, Ren B, et al. Effect of *Veillonella parvula* on the physiological activity of *Streptococcus mutans*. Arch Oral Biol. 2020 Jan 1;109.
14. Parashar A, Parashar S, Zingade A, Gupta S, Sanikop S. Interspecies communication in oral biofilm: An ocean of information. Oral Sci Int. 2015 May 1;12(2):37–42.
15. Rivera-Quiroga RE, Cardona N, Padilla L, Rivera W, Rocha-Roa C, Diaz De Rien MA, et al. In silico selection and in vitro evaluation of new molecules that inhibit the adhesion of streptococcus mutants through antigen i/ii. Int J Mol Sci. 2021;22(1):1–17.
16. Delwiche E. The *Veillonellae*: Gram-Negative Cocci with a Unique Physiology. Annu Rev Microbiol. 1985;39(1):175–93.
17. Essentials of Clinical Periodontology and Periodontics.
18. 4-formyl-2,6-dimethoxyphenyl beta-D-galactopyranoside | C15H20O9 - PubChem [Internet]. [cited 2022 Nov 27]. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/54571662>
19. Cyto6E9 | C18H11F3N2 - PubChem [Internet]. [cited 2022 Nov 27]. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5716748>
20. Betaine | C5H11NO2 - PubChem [Internet]. [cited 2022 Nov 27]. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/247#section=2D-Structure>
21. Dibutyl phthalate | C16H22O4 - PubChem [Internet]. [cited 2022 Nov 27]. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/3026#section=2D-Structure>
22. Choline | C5H14NO+ - PubChem [Internet]. [cited 2022 Nov 27]. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/305#section=3D-Conformer>
23. 2-(3,4-Dihydroxyphenyl)acetamide | C8H9NO3 - PubChem [Internet]. [cited 2022 Nov 27]. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/70795>