

Profil Fitokimia dan Aktivitas Antibakteri dari *Massoia aromatic* Becc., *Acorus calamus* L., dan *Allium sativum* L. terhadap Bakteri Penyebab Rinosinusitis

Phytochemical Profile and Antibacterial Activity of *Massoia aromatic* Becc., *Acorus calamus* L., and *Allium sativum* L. against Bacteria Causing Rhinosinusitis

I Made Sugata^{1*}, I Kadek Darmo Suputra¹, Putu Emy Suryanti¹, Made G. Juniarta¹, I Gusti Agung Ayu Kartika¹

¹Program Studi Yoga dan Kesehatan, Fakultas Brahma Widy, Universitas Hindu Negeri I Gusti Bagus Sugriwa Denpasar, Bali, Indonesia

Diajukan: 29-01-2023

Direview: 20-02-2023

Disetujui: 26-09-2023

Kata Kunci: *Acorus calamus*, *Allium sativum*, antiBac-Pred, antibakteri, *Massoia aromatic*.

Keywords: *Acorus calamus*, *Allium sativum*, antiBac-Pred, antibacterial, *Massoia aromatic*.

Korespondensi:

I Made Sugata
imadesugata@gmail.com



Lisensi: **CC BY-NC-ND**
4.0

Copyright ©2023
Penulis

Abstrak

Triketuka dalam teks pengobatan Bali adalah ramuan dengan berbagai aktivitas terapi. Ramuan ini terdiri dari masoyi (*Massoia aromatic* Becc.), dringo (*Acorus calamus* L.), dan bawang putih (*Allium sativum* L.). Potensi antibakteri terhadap bakteri penyebab rinosinusitis dari ramuan ini belum sepenuhnya dinilai. Berdasarkan uraian tersebut, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui potensi ketiga komponen tersebut sebagai antibakteri terutama spesifik untuk rinosinusitis. Pada penelitian ini dilakukan uji antibakteri secara in vitro terhadap *Streptococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, dan *Pseudomonas aeruginosa*. Kromatografi Cair-Spektroskopi Massa digunakan untuk menentukan profil fitokimia masing-masing tanaman. Uji antibakteri dilakukan dengan metode mikrodilusi untuk menentukan nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM). Terakhir, kontribusi senyawa yang terdeteksi diprediksi menggunakan prediksi spektrum aktivitas untuk zat aktif biologis (PASS) online dan dilanjutkan dengan Antibac-Pred. Uji antibakteri in vitro menunjukkan bahwa sampel memiliki KHM > 4096 ppm terhadap semua bakteri kecuali *M. aromatic* dan *A. calamus* terhadap *Staphylococcus aureus* masing-masing sebesar KHM 4096 ppm. Temuan ini dikonfirmasi dalam PASS online dan Antibac-Pred. Studi menunjukkan bahwa beberapa senyawa yang ada di dalam sampel mungkin memiliki aktivitas antibakteri tetapi dalam aktivitas rendah terhadap bakteri yang diuji. Kesimpulannya, tanaman tersebut memiliki potensi antibakteri yang rendah terhadap bakteri penyebab rinosinusitis. Kajian kombinasi ketiga tanaman tersebut perlu dilakukan untuk memaksimalkan potensi antibakterinya.

Abstract

Triketuka, an herb with multiple therapeutic activities, is featured in Balinese medicinal texts. This herb is composed of *Massoia aromatic* Becc. (masoyi), *Acorus calamus* L. (dringo), and *Allium sativum* L. (garlic). The antibacterial activity of these ingredients against bacteria causing rhinosinusitis has not been fully evaluated. Hence, this study seeks to determine the potential of these three components, especially with regards to their effectiveness against rhinosinusitis. In this research, an in vitro antibacterial test was conducted against *Streptococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, and *Pseudomonas aeruginosa*. The phytochemical profile of each plant was determined using Liquid Chromatography-Mass Spectrometry. The Minimum Inhibitory Concentration value was determined by carrying out the antibacterial test via the microdilution method. The detected compounds were analyzed for their contributions through the prediction of activity spectra for biologically active substances (PASS) online and Antibac-Pred. As a result of the in vitro antibacterial test, the samples were found to have MIC > 4096 ppm against all bacteria except *Massoia aromatic* and *Acorus calamus* against *Staphylococcus aureus* in MIC 4096 ppm each. This discovery was further verified through PASS online and Antibac-Pred. The studies indicate that certain compounds found in the samples exhibit antibacterial activity, albeit with low efficacy against the tested bacteria. In conclusion, the plants exhibit low antibacterial potential against bacteria that cause rhinosinusitis. Further research on the combination of the three plants is required to enhance their antibacterial efficiency.

Cara mensitasi artikel:

Sugata, IM, Suputra, IKD, Suryanti, PE, Juniarta, MG, Kartika, IGAA, "Profil Fitokimia dan Aktivitas Antibakteri dari *Massoia aromatic* Becc., *Acorus calamus* L., dan *Allium sativum* L. terhadap Bakteri Penyebab Rinosinusitis" *J. Ilm. Medicam.*, vol. 9, no. 2, pp. 106–114, Sept. 2023, doi: <https://doi.org/10.36733/medicamento.v9i2.5961>

PENDAHULUAN

Sinusitis merupakan salah satu penyebab masalah kesehatan yang paling banyak dijumpai di dunia dan sering dijumpai dalam praktek sehari-hari.¹ Tingginya angka kejadian rinosinusitis juga mencerminkan tingginya jumlah kasus sinusitis. Hal ini karena istilah sinusitis disebut juga dengan rhinosinusitis. Rhinosinusitis menggantikan istilah sinusitis karena sinusitis sering didahului oleh rhinitis dan jarang terjadi tanpa peradangan pada saluran napas hidung.²

Terdapat beberapa faktor yang berkontribusi terhadap rinosinusitis kronis seperti penyumbatan ostial, pemulihan fungsi mukosiliar yang tertunda, resirkulasi mukus dan osteitis, infeksi mikroba yang persisten, dan peradangan.³ Ostium sinus dapat tersumbat karena obstruksi dari pembersihan mukosiliar normal akibat penebalan mukosa yang meradang. Oleh karena itu, teknik intervensi yang digunakan untuk mengatasi sinusitis harus dapat membantu proses sekresi atau pengeluaran mukus dengan kekentalan, volume, dan komposisi yang normal.

Salah satu teknik intervensi yang dianggap dapat membantu adalah *Jala Neti*, yang merupakan bagian dari enam teknik pembersihan tubuh dalam *Hatha Yoga* yang disebut *Shatkarma*.⁴ Lebih lanjut peneliti menjelaskan bahwa *Jala Neti* merupakan salah satu bagian dari teknik *Neti* untuk membersihkan saluran hidung yang berhubungan dengan bagian atas sistem pernapasan. Ada empat jenis *Neti* yang dapat dipraktikkan yang meliputi *Jala* (air), *Sutra* (benang atau kain), *Dugdha* (susu), dan *Ghritha* (mentega atau ghee yang dicairkan).

Jala neti sebagai teknik yang banyak dilakukan, kerap perlu dimodifikasi dengan menambahkan metode lain sesuai kebutuhan seperti misalnya penambahan sedikit *baking soda*, pemberian jus *aloe vera*, dan memberikan pijatan dengan menggunakan ramuan herbal untuk melumasi selaput lendir. Ramuan herbal yang biasa digunakan adalah minyak wijen.^{4,5} Namun dalam perkembangannya, terdapat ramuan herbal lain yang juga sering digunakan.

Salah satu ramuan tradisional Bali yang telah sering digunakan dalam praktek *Neti* adalah ramuan *Triketuka*, yang dalam teks pengobatan Bali adalah

ramuan dengan berbagai aktivitas terapi. Ramuan ini terdiri dari kesuna/bawang putih (*Allium sativum L.*), jangu/dringo (*Acorus calamus L.*), dan mesui/masoyi (*Massoia aromatic Becc.*). Ramuan ketiga bahan ini dipercaya memiliki manfaat dalam terapi rinosinusitis terutama untuk mengatasi infeksi bakteri yang menjadi salah satu penyebab sinusitis. Namun belum terdapat kajian ilmiah terkait penggunaan ramuan ini untuk terapi rhinosinusitis.

Kombinasi minyak atsiri dengan konsentrasi 5% masoyi dan 10% kayu manis memiliki aktivitas antibakteri paling tinggi terhadap bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Pseudomonas aeruginosa* serta memiliki sifat bakterisidal.⁶ Sementara itu, penelitian lain membuktikan potensi tanaman Jeringau/Dringo. Penelitian menemukan bahwa senyawa utama dalam minyak atsiri rimpang jeringau adalah eusaron dan asarone yang telah diketahui memiliki aktivitas antibakteri.⁷ Terakhir, bawang putih memang sudah terkenal dengan efek antibakterinya. Bawang putih ditemukan efektif sebagai antibakteri dan antibiofilm terhadap isolat bakteri sinusitis dan dapat digunakan untuk pencegahan terhadap resistensi obat pada infeksi sinusitis.⁸

Berdasarkan uraian tersebut, peneliti tertarik untuk mengetahui potensi ketiga komponen tersebut sebagai antibakteri terutama spesifik untuk rinosinusitis. Beberapa bakteri yang terlibat pada kejadian rinosinusitis dan diuji pada penelitian ini karena kemudahan dalam penyediaan yaitu *S. aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, dan *P. aeruginosa*.

METODE PENELITIAN

Rancangan Penelitian

Penelitian ini tergolong dalam pendekatan eksperimental laboratorium yang diawali dengan penyiapan ekstrak tanaman dan analisis fitokimia dengan metode Kromatografi Cair-Spektroskopi Massa (LC-MS/MS). Penelitian kemudian dilanjutkan dengan uji aktivitas antibakteri terhadap lima bakteri terpilih yang berhubungan dengan sinusitis. Terakhir, prediksi spektrum aktivitas untuk zat aktif biologis (PASS) online dan Antibac-Pred digunakan untuk memprediksi kontribusi senyawa yang terdeteksi terhadap aktivitas antioksidan tanaman.

Alat. UHPLC Vanquish Tandem Q Exactive Plus Orbitrap HRMS ThermoScientific, Accucore C18, 100 x 2,1 mm, 1,5 μ m (ThermoScientific), microplate 96-wells, multichannel micropipette, e-tube, vial, dan cawan petri. Perangkat lunaknya meliputi Marvin Sketch, ChemDraw, dan PASS Online (<http://www.way2drug.com/PASSOnline/predict.php>). Sumber database yang digunakan adalah Chemspider dan Pubchem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>).

Bahan. Seluruh komponen *Triketuka* dikumpulkan dari Bali pada bulan Maret-April 2022 antara lain mesui dari Karangasem, jangu dari Padangsambian, dan bawang putih dari Songan. Ketiga bahan telah di determinasi di Laboratorium Karakterisasi Kebun Raya "Eka Karya"-Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN), di Bedugul, Tabanan, Bali. Bahan lain yang digunakan dalam penelitian ini adalah air, etanol 96%, H₂O, asam format, asetonitril, methanol, dan Mueller Hinton Broth (MHB) Bakteri yang diujikan adalah *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli*, dan *P. aeruginosa* (ATCC) yang dikembangkan di Institut Teknologi Bandung.

Prosedur Penelitian

1. Persiapan Ekstrak

A. Ekstrak *M. aromatica* (Masoyi).

Kulit batang *M. aromatica* digiling (dihaluskan menjadi bubuk halus) dan disuling dengan distilasi uap untuk mendapatkan minyak atsiri. Minyak atsiri yang dihasilkan disimpan dan disegel dalam botol kaca gelap untuk analisis lebih lanjut.

B. Ekstrak *A. calamus* (Dringo).

Ekstrak etanol *A. calamus* dibuat dengan metode maserasi dengan merendam 25 g serbuk simplisia dengan 300 mL etanol 70%. Maserasi yang disertai pengadukan dilakukan selama 2 jam kemudian didiamkan hingga 24 jam. Setelah didiamkan selama 24 jam, disaring dan remaserasi diulang kembali satu kali.

C. Ekstrak *A. sativum* (Bawang Putih).

Sepuluh gram (atau sesuai kebutuhan) umbi bawang putih disimpan pada suhu 4 °C sampai saat akan diekstrak. Proses ekstraksi dilakukan dengan terlebih dahulu menggerus bawang putih menggunakan lumpang dan alu.

Jus dan ampas dikumpulkan segera ke dalam tabung sentrifugasi. Etanol 20% dimasukkan ke dalam tabung sebagai pelarut. Setelah dikocok sebanyak 10 kali, didiamkan selama 10 menit pada suhu ruang. Tabung kemudian disentrifugasi dua kali pada 5500 rpm masing-masing selama 5 menit. Supernatan digabungkan kemudian dibuat konsentrat menggunakan pengering beku. Eksperimen selanjutnya dilakukan pada suhu kamar (23-25°C).⁹

2. Penapisan Senyawa Alami dengan LC-MS/QTOF

Sebanyak 0,5 g masing-masing ekstrak dimasukkan ke dalam labu takar 10 mL, kemudian ditambahkan metanol. Sampel disonikasi selama 30 menit, kemudian disaring menggunakan filter membran PTFE 0,2 m. Sampel yang disaring kemudian disuntikkan ke UHPLC *Vanquish Tandem Q Exactive Plus Orbitrap HRMS ThermoScientific*. Analisis UHPLC dilengkapi dengan HESI-MS/MS dengan mode ionisasi positif. Sampel dianalisis menggunakan Accucore C18, 100 x 2,1 mm, 1,5 μ m (*ThermoScientific*), suhu kolom 30°C, eluen yang digunakan adalah H₂O + 0,1% asam format (A) dan asetonitril+ 0,1% asam format (B) dengan gradien 0-1 menit (5% B), 1-25 menit (5-95% B), 25-28 menit (95% B), 28-30 menit (5% B). Eluen disesuaikan pada laju alir 0,2 ml/menit, volume injeksi 2,0 μ l, rentang massa 200-1500 m/z. Parameter sumber HESI adalah *sheath gas flow rate* 15, *aux gas flow rate* 3, *sweep gas flow rate* 0, *spray voltage* 3,80, *capillary temperature* 320°C, *S-lens RF level* 50, dan *aux gas heater temperature* 0°C.

3. Uji Antibakteri *In Vitro*

Uji antibakteri dilakukan untuk mengetahui nilai MIC tunggal dari masing-masing bahan uji. Uji aktivitas antibakteri dilakukan secara *in vitro* dengan metode mikrodilusi.

A. Kultur murni bakteri uji disuspensikan dalam MHB dan diinkubasikan selama 18-24 jam pada suhu 35 \pm 2 °C. Suspensi bakteri ini kemudian diencerkan dengan MHB hingga dihasilkan absorbansi 0,08-0,13 menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 625 nm (setara dengan 0,5 McFarland), sebagai blanko digunakan MHB. Setelah persyaratan absorbansi dipenuhi,

dilakukan pengenceran 1:20 dengan menggunakan MHB supaya didapatkan koloni sebanyak 5×10^6 CFU/mL. Hasil campuran di-vortex setiap kali dilakukan pengenceran. Suspensi hasil pengenceran inilah yang akan digunakan dalam pengujian aktivitas antibakteri dengan metode mikrodilusi. Suspensi ini hanya bisa digunakan selama 15 menit dari waktu preparasi.

- B. Ekstrak dilarutkan dalam DMSO 100% kemudian disonikasi pada suhu 40°C hingga ekstrak terlarut. Kemudian sejumlah DMSO diencerkan dengan MHB dengan perbandingan 1:10 untuk mendapatkan ekstrak yang terlarut dalam DMSO 10%.
- C. Metode mikrodilusi dilakukan dengan menggunakan microplate 96-wells yang memiliki 96 sumur, terdiri atas 8 baris dan 12 kolom. Semua sumur pada tiga baris pertama dimasukkan 100 μL media pertumbuhan yaitu MHB sebagai media fertil untuk bakteri. Kolom pertama digunakan sebagai kontrol negatif (hanya berisi MHB) dan sumur kolom kedua digunakan sebagai kontrol positif (berisi media dan bakteri). Pada sumur kolom ke-12 ditambahkan 100 μL stok larutan ekstrak uji

dengan konsentrasi tertentu yang telah disiapkan sebelumnya. Konsentrasi yang disiapkan adalah sebesar dua kali lipat dari konsentrasi akhir yang diinginkan dari konsentrasi akhir di kolom 12 karena mengalami pengenceran dengan media yang sudah lebih dahulu ada di sumur. Setelah campuran menjadi homogen, diambil 100 μL dari sumur kolom ke-12 untuk dipindah ke sumur kolom ke-11 menggunakan multichannel micropipette. Langkah yang sama diulangi hingga hasil pengenceran ekstrak telah mengisi sumur kolom ke-3 dengan konsentrasi sebesar 1/512 konsentrasi pada kolom ke-12 atau 1/1024 dari konsentrasi awal yang dimasukkan pada kolom ke-12. Pada setiap sumur pada kolom 2-12, ditambahkan 10 μL suspensi bakteri. Semua proses dilakukan secara triplo untuk ekstrak. Penempatan beberapa variasi kelompok dan konsentrasi larutan dapat dilihat pada **Tabel 1**. Plat mikrodilusi diinkubasikan pada suhu $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam dan diamati untuk menentukan konsentrasi hambat minimum (KHM) dari ekstrak yang diuji.

Tabel 1. Posisi Penempatan Berbagai Variasi Kelompok dan Konsentrasi Larutan pada Uji Antibakteri

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	KN	KP	x	2x	4x	8x	16x	32x	64x	128x	256x	512x
B	KN	KP	x	2x	4x	8x	16x	32x	64x	128x	256x	512x
C	KN	KP	x	2x	4x	8x	16x	32x	64x	128x	256x	512x
D												
E												
F												
G												
H												

Keterangan:

KN: Kontrol negatif

KP: Kontrol positif

Analisis Data.

Prediksi aktivitas biologis senyawa yang terdeteksi dalam analisis LC-MS/MS dibuat menggunakan webserver PASS Online (<http://way2drug.com/passonline/index.php>). File (.mol) senyawa dimasukkan untuk memprediksi aktivitas biologis. Kemudian struktur senyawa potensial dengan potensi antibakteri tinggi dianalisis

lebih lanjut menggunakan *antiBac-Pred* (<http://www.way2drug.com/antibac/>). File (.mol) senyawa tersebut digunakan untuk memprediksi spesies bakteri yang mungkin dihambat.

Spektrum aktivitas yang diprediksi dari suatu senyawa diperkirakan sebagai kemungkinan aktivitas (Probable Activity/Pa) dan kemungkinan tidak aktif (Pi).¹⁰ Senyawa yang menunjukkan nilai Pa yang lebih

besar daripada P_i adalah senyawa yang dianggap mungkin untuk aktivitas farmakologis tertentu.^{10,11} Semakin tinggi nilai P_a , semakin akurat hasil prediksi.¹²

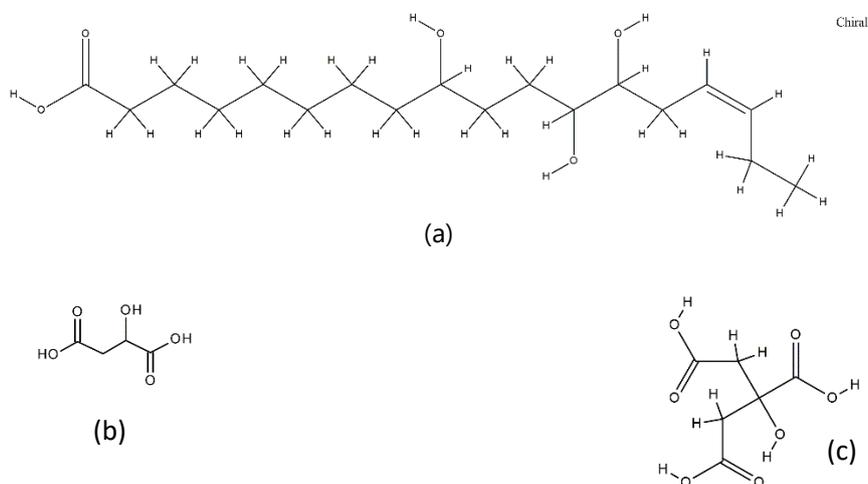
Kriteria yang digunakan untuk menentukan penggolongan nilai P_a adalah (1) $P_a > 0,7$, senyawa yang diuji memiliki bentuk dan aktivitas yang analog dengan senyawa obat, (2) $0,5 < P_a < 0,7$, senyawa yang diuji memiliki bentuk yang berbeda dan kecil kemungkinannya untuk menunjukkan aktivitas seperti obat, (3) $P_a < 0,5$, senyawa yang diuji mungkin tidak menunjukkan aktivitas seperti obat. Namun, jika aktivitas ini dikonfirmasi dalam uji laboratorium, senyawa uji mungkin merupakan senyawa kimia baru.¹²

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penapisan Senyawa dengan LC-MS/MS

Penapisan dan identifikasi senyawa kimia dari ekstrak yang tidak ditargetkan, dilakukan melalui LC-MS/MS. Puncak yang teridentifikasi disajikan dalam Supplementary Data 1-3.

Studi pustaka mengkonfirmasi bahwa senyawa dengan puncak tertinggi pada masing-masing bahan memiliki aktivitas antibakteri. Senyawa-senyawa tersebut yaitu (15Z)-9,12,13-Trihydroxy-15-octadecenoic acid dari ekstrak *M. aromatica*¹³, DL-Malic acid dari ekstrak *A. calamus*^{14,15}, dan citric acid dari ekstrak *A. Sativum*.¹⁶ Struktur dari senyawa tersebut dapat dilihat pada **Gambar 1**.



Gambar 1. Senyawa yang Terdeteksi pada *M. aromatica*, *A. Calamus*, dan *A. Sativum*. (a) (15Z)-9,12,13-Trihydroxy-15-octadecenoic acid; (b) citric acid; (c) DL-Malic acid.

Uji Antibakteri

Ramuan triketuka belum diuji aktivitas farmakologisnya. Namun, masing-masing komponennya telah diteliti secara ekstensif. Aktivitas antibakteri menjadi fokus penelitian ini. Masing-masing komponen dibuat dalam bentuk (ekstrak atau minyak) sesuai dengan data pustaka sebagai bentuk dengan aktivitas antibakteri optimum untuk memperoleh ramuan Triketuka yang baik dan sesuai perkembangan ilmiah.^{6,9,17}

M. aromatic Becc., *A. calamus* L., dan *A. sativum* L memiliki potensi antibakteri yang rendah terhadap bakteri penyebab rinosinusitis seperti *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli*, dan *P. aeruginosa*. Uji antibakteri *in vitro* menunjukkan bahwa sampel memiliki KHM > 4096 ppm terhadap semua bakteri

kecuali *M. aromatic* dan *A. calamus* terhadap *S. aureus* masing-masing sebesar 4096 ppm (**Tabel 2**).

Minyak atsiri *M. aromatica* telah terbukti aktif melawan *E. coli*, *S. aureus*, dan *P. aeruginosa* dalam kombinasi dengan bahan lain.¹⁸ Dalam penggunaan tunggal, minyak ini aktif melawan *Streptococcus mutans*.⁶ C-10 masoialactone sebagai komponen utama dalam *M. aromatica* diketahui aktif terhadap biofilm kultur multispecies *Candida albicans*, *P. aeruginosa* dan *E. coli*.^{19,20} Senyawa ini tidak terdeteksi dalam ekstrak uji yang digunakan dalam penelitian ini.

Minyak atsiri rimpang *A. calamus* memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*, *S. aureus*, dan *E. coli* dengan konsentrasi hambat minimal 0,05%. Kandungan senyawa utama

dalam minyak atsiri rimpang jeringau adalah eusaron dan asaron yang telah diketahui memiliki aktivitas antibakteri.⁷ Kedua senyawa tersebut tidak terdeteksi pada ekstrak yang telah disiapkan.

Bawang putih memiliki aktivitas mengendalikan bakteri patogen, baik gram negatif maupun positif. Sari bawang putih bubuk memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus*, *E. coli*, *S.*

typhimurium dan *P. aeruginosa*. Serbuk bawang putih juga efektif dalam menghambat bakteri Gram positif seperti *S. aureus*, serta bakteri Gram negatif seperti *E. coli*, *S. typhimurium* dan *P. aeruginosa*. Salep ekstrak etanol bawang putih (*Allium sativum* L.) dapat menghambat *S. aureus* dan *Staphylococcus epidermidis*.²¹

Tabel 2. Hasil Konsentrasi Hambat Minimum Ekstrak Uji terhadap Bakteri Uji

Ekstrak	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Masoyi	4096 ppm	>8192 ppm	>8192 ppm	>8192 ppm
Dringo	4096 ppm	>8192 ppm	>8192 ppm	>8192 ppm
Bawang putih	8192 ppm	>8192 ppm	>8192 ppm	>8192 ppm

Ekstrak bawang putih memiliki aktivitas antibakteri dan antibiofilm yang efektif terhadap isolat sinusitis (*Klebsiella pneumonia*, *Proteus mirabilis*, *S. aureus*, dan *Enterococcus faecalis*) dan dapat digunakan untuk pencegahan resistensi obat terhadap infeksi sinusitis.⁸ Pada penelitian ini ekstrak air berbagai varietas bawang putih memiliki MIC yang lebih kecil terhadap *S. aureus* daripada yang diperoleh pada penelitian ini yaitu antara 3,88-9,85 µg/mL. Zat bioaktif yang berperan sebagai antibakteri pada bawang putih adalah allicin yang bersifat *volatile* (mudah menguap) dengan kandungan sulfur. Tidak adanya senyawa tersebut dalam sampel dapat menyebabkan penurunan bahkan hingga hilangnya aktivitas antibakteri.

Meskipun tidak beberapa senyawa aktif antibakteri seperti tersebut di atas tidak terdeteksi pada ekstrak uji, terdapat senyawa lain dalam ekstrak uji yang dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri. Sebagai contoh, asam (15Z)-9,12,13-Trihidroksi-15-oktadenoat menunjukkan aktivitas antibakterinya terhadap *S.aureus*.¹³ Ikatan rangkap dan gugus hidroksil memainkan peran penting dalam aktivitas tersebut. Ikatan rangkap dan gugus hidroksil dari asam lemak tak jenuh ini dapat meningkatkan cairan membran sel *S. aureus*. Fluiditas dari membrane sel mempengaruhi integritas dan permeabilitas sel *S. aureus*. Selain itu, fluiditas membran menyebabkan kebocoran komponen seluler yang menyebabkan kematian *S. aureus*.

DL-Malic acid dari ekstrak *A. calamus* telah terbukti memiliki aktivitas antimikroba terhadap

bakteri gram positif, seperti *Streptococcus pneumoniae* dan *S. aureus*. Mekanisme kerjanya kemungkinan karena kemampuannya untuk menghambat aktivitas enzim pada bakteri tersebut.^{14,15} Senyawa ini juga dilaporkan aktif melawan *E.coli*, *Listeria monocytogenes*, dan *Salmonella Enteritidis*.^{15,22}

Citric acid dari ekstrak *A. sativum* menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* dan *S. aureus*. Namun, aktivitasnya tidak terlalu kuat.¹⁶ Hal ini sejalan dengan temuan terbaru. Asam lemah seperti *Citric acid* memiliki spektrum aktivitas yang luas terhadap berbagai macam bakteri, termasuk bakteri yang resisten terhadap antibiotik.²³

Analisis Aktivitas Biologis In Silico

Spektrum aktivitas biologis dari senyawa fitokimia yang diidentifikasi sebelumnya diperoleh melalui versi PASS online. Prediksi ini ditafsirkan dan digunakan dengan cara yang fleksibel. PASS adalah program berbasis komputer yang digunakan untuk memprediksi berbagai jenis aktivitas farmakologis untuk berbagai zat, termasuk senyawa fitokimia.¹¹ Prediksi spektrum ini didasarkan pada analisis hubungan antara aktivitas dan struktural dari suatu kumpulan data yang mengandung lebih dari 205.000 senyawa.¹⁰ Server ini menyediakan lebih dari 4000 jenis aktivitas biologis dan digunakan untuk memprediksi dan menyaring potensi senyawa bioaktif dalam proses penemuan obat.¹²

Sepuluh senyawa dengan sampel area terbesar dan nilai mzCloud Best Match yang baik

menurut analisis LC-MS/MS dianalisis dalam pengujian ini. Senyawa dari *M. aromatica* yaitu (15Z)-9,12,13-Trihydroxy-15-octadecenoic acid, Eugenol, Monobutyl phthalate, 16-Hydroxyhexadecanoic acid, 3-tert-Butyladipic acid, 1-(Carboxymethyl) cyclohexanecarboxylic acid, Chlorogenic acid, (\pm)9-HpODE, dan 2-Hydroxymyristic acid (**Tabel 3**).

Tabel 3. Prediksi Probabilitas Aktivitas Antibakteri Senyawa yang Terdeteksi pada *Massoia aromatica*

Nama Senyawa	Pa	Pi
(15Z)-9,12,13-Trihydroxy-15-octadecenoic acid	0,391	0,032
Eugenol	0,325	0,051
Monobutyl phthalate	0,305	0,058
16-Hydroxyhexadecanoic acid	0,253	0,082
3-tert-Butyladipic acid	0,281	0,067
1-(Carboxymethyl) cyclohexanecarboxylic acid	0,291	0,063
Chlorogenic acid	0,537	0,013
(\pm)9-HpODE	0,173	0,143
2-Hydroxymyristic acid	0,370	0,038

Pa = (probabilitas "to be active"), Pi = (probabilitas "to be inactive")

Senyawa dari *A. calamus* yaitu DL-Malic acid, Citric acid, D-(+)-Galactose, Glucoheptonic Acid, 4-Oxoproline, (15Z)-9,12,13-Trihydroxy-15-octadecenoic acid, 16-Hydroxyhexadecanoic acid, 4-Hydroxybenzaldehyde, (+/-)13-HODE, dan Corchorifatty acid F (**Tabel 4**).

Tabel 4. Prediksi Probabilitas Aktivitas Antibakteri Senyawa yang Terdeteksi pada *Acorus calamus*

Nama Senyawa	Pa	Pi
DL-Malic acid	0,321	0,053
Citric acid	0,290	0,064
D-(+)-Galactose	0,537	0,013
Glucoheptonic Acid	0,301	0,060
4-Oxoproline	0,385	0,034
(15Z)-9,12,13-Trihydroxy-15-octadecenoic acid	0,391	0,032
16-Hydroxyhexadecanoic acid	0,253	0,082
4-Hydroxybenzaldehyde	0,378	0,036
(+/-)13-HODE	0,400	0,030
Corchorifatty acid F	0,421	0,026

Pa = (probabilitas "to be active"), Pi = (probabilitas "to be inactive")

Sedangkan senyawa dari *A. sativum* yaitu Citric acid, DL-Malic acid, (15Z)-9,12,13-Trihydroxy-15-octadecenoic acid, D-(+)-Galactose, 4-Oxoproline, 4-Hydroxybenzaldehyde, Glucoheptonic Acid, 1,2,3-

cyclopropanetricarboxylic acid, Glutaric anhydride, dan Citraconic acid (**Tabel 5**).

Tabel 5. Prediksi Probabilitas Aktivitas Antibakteri Senyawa yang Terdeteksi pada *Allium sativum*

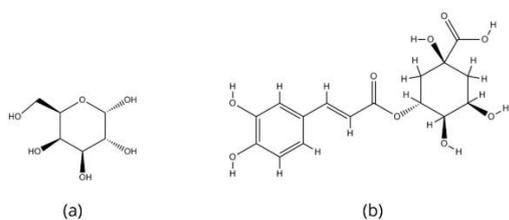
Nama Senyawa	Pa	Pi
Citric acid	0,290	0,064
DL-Malic acid	0,321	0,053
(15Z)-9,12,13-Trihydroxy-15-octadecenoic acid	0,391	0,032
D-(+)-Galactose	0,537	0,013
4-Oxoproline	0,385	0,034
4-Hydroxybenzaldehyde	0,378	0,036
Glucoheptonic Acid	0,301	0,060
1,2,3-cyclopropanetricarboxylic acid	0,354	0,042
Glutaric anhydride	0,368	0,038
Citraconic acid	0,350	0,043

Pa = (probabilitas "to be active"), Pi = (probabilitas "to be inactive")

Data menunjukkan bahwa semua senyawa diduga dapat berperan sebagai antibakteri. Namun, nilai Pa dianggap rendah. Dua senyawa dengan Pa tertinggi terdapat pada *A. sativum* dan *A. calamus* (D-(+)-Galactose) dan *M. aromatic* (Chlorogenic acid) (**Gambar 2**). Pa dari senyawa tersebut lebih besar dari 0,5. Nilai tersebut menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki bioaktivitas yang cukup tinggi, yang menjadikannya sebagai senyawa bioaktif yang kemungkinan akan menunjukkan peluang keberhasilan yang tinggi ketika diuji secara in vitro dan atau in vivo.

Pengujian in silico kemudian dilanjutkan dengan analisis menggunakan Antibac-Pred. AntiBac-Pred adalah alat berbasis web pertama yang memungkinkan untuk menilai efek penghambatan senyawa kimia terhadap sebanyak 353 bakteri, termasuk yang resisten dan tidak resisten²⁴. Berdasarkan hasil analisis (Supplementary Data 4-5), D-(+)-Galactose dan Chlorogenic acid menunjukkan pengaruh terhadap empat spesies bakteri yang diuji dalam penelitian ini. D-(+)-Galaktosa diperkirakan aktif terhadap *S. aureus* (kepercayaan 0,324), *S. epidermidis* (kepercayaan 0,1067), *E. coli* (kepercayaan 0,2341) dan *P. aeruginosa* (kepercayaan 0,0239) dengan nilai kepercayaan yang kecil, namun positif. Sedangkan *chlorogenic acid* hanya aktif melawan *S. aureus* (kepercayaan 0,0720). Nilai positif menunjukkan bahwa senyawa berpotensi menghambat pertumbuhan bakteri sehingga dapat

dipilih untuk validasi selanjutnya secara eksperimental. Semakin tinggi nilai kepercayaan menunjukkan semakin tinggi tingkat kepercayaan terhadap hasil prediksi.



Gambar 2. Struktur dari D-(+)-Galactose (a) dan Chlorogenic acid (b)

D-(+)-Galaktosa dan Chlorogenic acid tidak pernah dilaporkan aktif melawan bakteri yang diuji. Pada penelitian lain, D-galaktosa dilaporkan aktif melawan *Streptococcus mutans*. Sejalan dengan hasil analisis Antibac-Pred, *Chlorogenic acid* pernah dilaporkan aktif melawan *E. coli*. Senyawa ini juga aktif melawan *Listeria innocua*, *Penicillium chrysogenum*, *Saccharomyces cerevisiae* dan patogen oportunistik seperti *C. albicans*.²⁵ Data dari Antibac-Pred memberikan informasi baru untuk kemungkinan senyawa antibakteri dan spesies bakteri yang sensitive terhadapnya.

SIMPULAN

M. aromatic Becc., *A. calamus* L., dan *A. sativum* L. sebagai komponen penyusun ramuan *Triketuka* memiliki potensi antibakteri yang rendah terhadap bakteri penyebab rinosinusitis seperti *S.aureus*, *S.epidermidis*, *E.coli*, dan *P.aeruginosa*. Tidak adanya beberapa senyawa potensial dapat menyebabkan penurunan potensi antibakteri sampel. Kajian kombinasi ketiga tanaman tersebut perlu dilakukan untuk memaksimalkan potensi antibakterinya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai menggunakan DIPA Universitas Hindu Negeri I Gusti Bagus Sugriwa Denpasar No: SP DIPA – 025.07.2.552762/2022 (17 November 2021).

KONFLIK KEPENTINGAN

Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Lahdji A, Novitasari A, Tajally A, Ratnaningrum K. *Buku Ajar: Sistem Telinga, Hidung, Dan Tenggorokan*. Unimus Press; 2017.
2. Benninger MS, Ferguson BJ, Hadley JA, et al. Adult chronic rhinosinusitis: Definitions, diagnosis, epidemiology, and pathophysiology. *Otolaryngol - Head Neck Surg.* 2003;129(SUPPL. 3):1-32. doi:10.1016/S0194-5998(03)01397-4
3. Hamilos DL. Chronic sinusitis. *J Allergy Clin Immunol.* 2000;106(2):213-227. doi:10.1067/mai.2000.109269
4. Wiyana Y, Juniarta MG. Terapi Jalā Neti sebagai Upaya Pembersihan Saluran Pernapasan Hidung. *J Yoga Dan Kesehat.* 2021;4(2):204. doi:10.25078/jyk.v4i2.2679
5. Buhrman S. Ayurvedic Approaches to The Treatment of Sinus Infections. *Protoc J Bot Med.* 1997;2(2):135-139.
6. Rollando R, Prasetyo YSA, Sitepu R. Uji Antimikroba Minyak Atsiri Masoyi (*Massoia aromatica*) Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*. *Maj Farm dan Farmakol.* 2019;23(3):52-57.
7. Rita WS, Suirta IW, Prisanti P, Utami P. Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Rimpang Jeringau (*Acorus calamus* Linn.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Cakra Kim (Indonesian E-Journal Appl Chem.* 2017;5(2):130-136.
8. Shahid M, Naureen I, Riaz M, Anjum F, Fatima H, Rafiq MA. Biofilm Inhibition and Antibacterial Potential of Different Varieties of Garlic (*Allium sativum*) Against Sinusitis Isolates. *Dose-Response.* 2021;19(4). doi:10.1177/15593258211050491
9. Fujisawa H, Suma K, Origuchi K, Kumagai H, Seki T, Ariga T. Biological and chemical stability of garlic-derived allicin. *J Agric Food Chem.* 2008;56(11):4229-4235. doi:10.1021/jf8000907
10. Goel RK, Singh D, Lagunin A, Poroikov V. PASS-assisted exploration of new therapeutic potential of natural products. *Med Chem Res.* 2011;20(9):1509-1514. doi:10.1007/s00044-010-9398-y
11. Khurana N, Ishar MPS, Gajbhiye A, Goel RK. PASS assisted prediction and pharmacological evaluation of novel nicotinic analogs for nootropic activity in mice. *Eur J Pharmacol.* 2011;662(1-3):22-30.

- doi:10.1016/j.ejphar.2011.04.048
12. Lagunin A, Stepanchikova A, Filimonov D, Poroikov V. PASS: Prediction of activity spectra for biologically active substances. *Bioinformatics*. 2000;16(8):747-748. doi:10.1093/bioinformatics/16.8.747
 13. Shi D, Xu W, Balan P, Wong M, Chen W, Popovich DG. In Vitro Antioxidant Properties of New Zealand Hass Avocado Byproduct (Peel and Seed) Fractions. *ACS Food Sci Technol*. 2021;1(4):579-587. doi:10.1021/acsfoodscitech.0c00018
 14. FM153322[6915-15-7]DL-Malic acid - pharma grade. Biosynth. Accessed July 14, 2023. <https://www.biosynth.com/p/FM153322/6915-15-7-dl-malic-acid-pharma-grade>
 15. Kim JH, Kwon KH, Oh SW. Effects of malic acid or/and grapefruit seed extract for the inactivation of common food pathogens on fresh-cut lettuce. *Food Sci Biotechnol*. 2016;25(6):1801-1804. doi:10.1007/s10068-016-0274-5
 16. ELIUZ E. Antimicrobial activity of citric acid against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans* as a sanitizer agent. *Eurasian J For Sci*. 2020;8(3):295-301. doi:10.31195/ejefjs.787021
 17. Misrahanum M, Fitri R, Ismail YS. Antibacterial activity of ethanol extract of delingo(*Acorus Calamus* L.) rhizome against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *J Pharm Sci*. 2022;294(2):300.
 18. Rollando R, Sitepu R. Efek Antibakteri dari Kombinasi Minyak Atsiri Masoyi dan Kayu Manis. *J Kefarmasian Indones*. 2018;8(1). doi:10.22435/jki.v8i1.7639.26-33
 19. Mulyani S, Purwanto, Sudarsono, et al. *Minyak Atsiri*. 1st ed. (Sudarsono, Purwanto, eds.). Gadjah Mada University Press; 2020.
 20. Hamzah H, Pratiwi SUT, Hertiani T. Efficacy of C-10 massoialactone against-multispecies microbial biofilm. *Biointerface Res Appl Chem*. 2022;12(3):3472-3487. doi:10.33263/BRIAC123.34723487
 21. Rajab MN, Edy HJ, Siampa JP. FORMULASI SEDIAAN SALEP EKSTRAK ETANOL BAWANG PUTIH (*Allium sativum*) SEBAGAI ANTIBAKTERI. *Pharmacon*. 2021;10(3):1-8.
 22. Raybaudi-Massilia RM, Mosqueda-Melgar J, Martín-Belloso O. Antimicrobial activity of malic acid against *Listeria monocytogenes*, *Salmonella Enteritidis* and *Escherichia coli* O157:H7 in apple, pear and melon juices. *Food Control*. 2009;20(2):105-112. doi:10.1016/j.foodcont.2008.02.009
 23. Kundukad B, Udayakumar G, Grela E, et al. Weak acids as an alternative anti-microbial therapy. *Biofilm*. 2020;2(August 2019):100019. doi:10.1016/j.bioflm.2020.100019
 24. Pogodin P V., Lagunin AA, Rudik A V., Druzhilovskiy DS, Filimonov DA, Poroikov V V. AntiBac-Pred: A Web Application for Predicting Antibacterial Activity of Chemical Compounds. *J Chem Inf Model*. 2019;59(11):4513-4518. doi:10.1021/acs.jcim.9b00436
 25. Muthuswamy S, Rupasinghe HPV. Fruit phenolics as natural antimicrobial agents: Selective antimicrobial activity of catechin, chlorogenic acid and phloridzin. *J Food Agric Environ*. 2007;5(3&4):81-85. <https://www.wflpublisher.com/Abstract/1043>