

## **BAB IV**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **A. Determinasi Tanaman**

Hasil determinasi sampel tanaman yang dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada yang menyatakan bahwa sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah benar *Piper cubeba* L.f. yang ditunjukkan pada lampiran 1.

#### **B. Pengumpulan dan Penyiapan Bahan**

Buah kemukus yang akan dianalisis berasal dari pedagang tanaman herbal di Desa Mayungan, Kecamatan Banguntapan, Kabupaten Bantul, Daerah Istimewa Yogyakarta. Buah kemukus dicuci hingga bersih dari kotoran yang menempel kemudian dihaluskan dan ditimbang. Serbuk buah kemukus digunakan agar memudahkan penyarian dan memperluas kontak antara bahan dengan air.

#### **C. Hasil Destilasi Minyak Atsiri**

Metode yang digunakan untuk mendapatkan minyak atsiri yaitu metode destilasi rebus. Metode ini dipilih karena minyak atsiri yang dihasilkan tidak berhubungan langsung dengan udara luar sehingga tidak mudah menguap dan volume minyak atsiri yang dihasilkan dapat langsung diketahui jumlahnya karena dilengkapi dengan skala. Minyak atsiri yang diperoleh berupa cairan berwarna kuning jernih dan berbau khas kemukus sejumlah 35 ml.

Pada pelaksanaan destilasi minyak atsiri ini perlu diperhatikan ukuran bahan tanaman yang seragam dan ruang antara bahan yang cukup agar air dapat berpenetrasi. Penyebaran harus merata dalam ketel sehingga penyari dapat menembus bahan secara merata dan menyeluruh. Buah kemukus yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah kemukus yang dikeringkan dengan cara dijemur dibawah sinar matahari dan ditutup kain hitam.

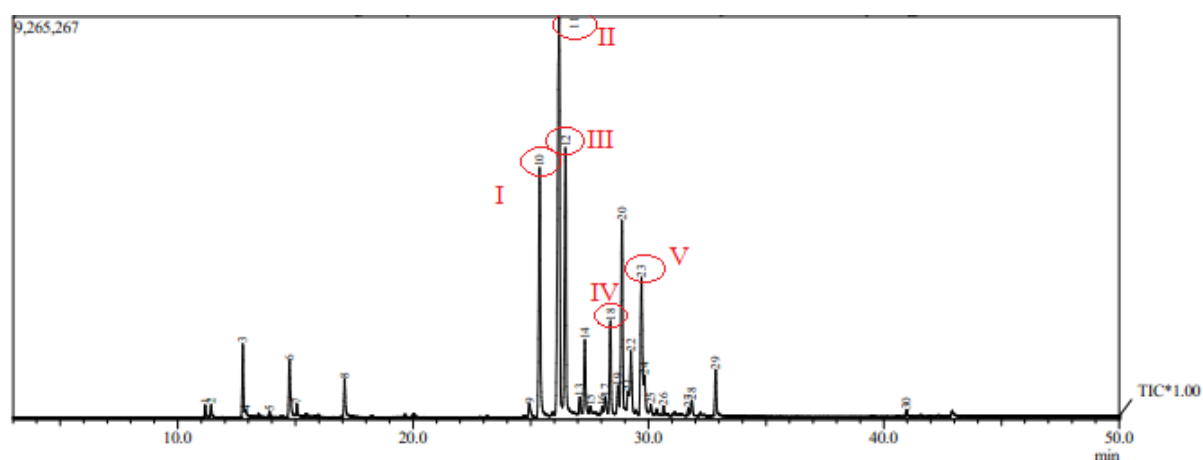
Minyak atsiri yang didapatkan dari proses destilasi adalah 35 ml dari 500 gram bahan baku serbuk minyak atsiri. Minyak atsiri tersebut kemudian dianalisis menggunakan GC-MS dan dilarutkan dengan n-heksana dalam pembuatan konsentrasi minyak atsiri dalam uji aktivitas antibakteri pada *Shigella flexneri*.

#### **D. Hasil Analisis GC-MS**

GC-MS dapat memberikan data kualitatif dan kuantitatif senyawa yang menjadi komponen minyak atsiri karena AUC yang ditunjukkan pada kromatogram berbanding lurus dengan konsentrasi masing masing komponen yang terdapat pada sampel. Analisis kromatografi gas akan mendapat kemungkinan jumlah komponen minyak atsiri dan kadar masing-masing. Sedangkan untuk menentukan jenis komponen minyak atsiri tersebut dilakukan analisis dengan MS selanjutnya diidentifikasi dengan spektra yang berasal dari NIST dan WILEY.

Analisis dengan GC-MS dilakukan dengan menginjeksi 1  $\mu$ L larutan ke dalam tempat injeksi. Uap cuplikan ini kemudian dibawa oleh gas pembawa masuk ke dalam kolom. Kolom akan memisahkan komponen-komponen

minyak atsiri sehingga dapat dideteksi oleh detektor dan dihasilkan suatu kromatogram. Identifikasi komponen-komponen senyawa kimia dalam minyak atsiri buah kemukus menggunakan alat GC-MS. Lingkaran merah pada gambar 7 menunjukkan 5 senyawa dengan kelimpahan tertinggi dalam minyak atsiri buah kemukus.



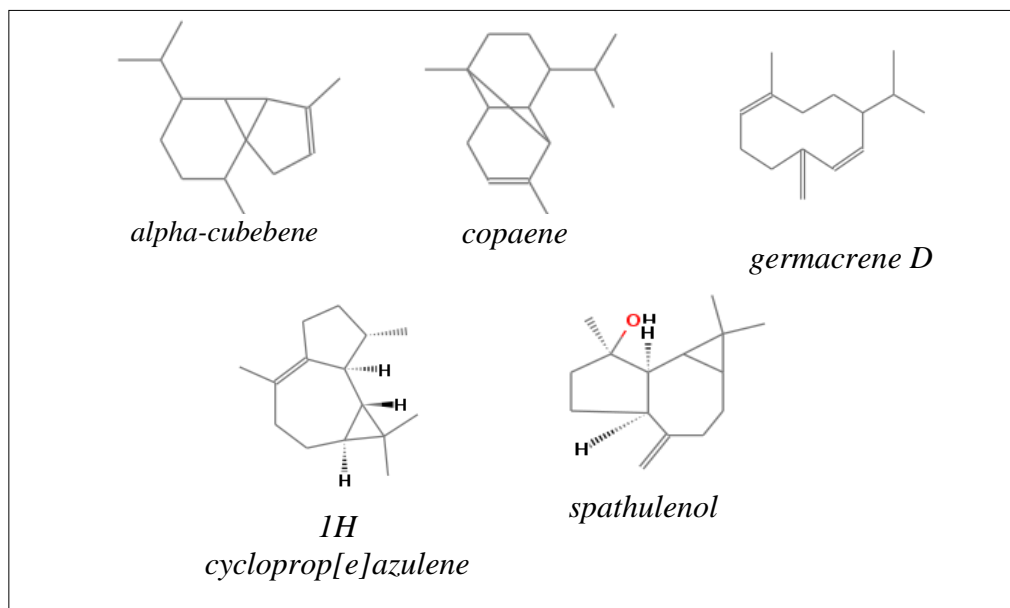
**Gambar 7.** Kromatogram Hasil Pemisahan Kromatografi Gas Sampel Minyak Atsiri Buah Kemukus

**Tabel 1.** Senyawa dengan kelimpahan tertinggi pada kromatogram GC-MS minyak atsiri buah kemukus

No	Senyawa	Waktu retensi	Puncak (%AUC)	SI	BM	Perkiraan Senyawa	Acuan
1	I	25,380	10 (12,32)	96	204	<i>alpha-cubebene</i>	NIST 62
2	II	26,203	11 (26,32)	96	204	<i>copaene</i>	NIST 62
3	III	27,082	12 (13,08)	95	204	<i>germacrene-D</i>	WILEY 229
4	IV	18,383	18 (4,16)	97	204	<i>1H-cycloprop[e]azulene</i>	NIST 12
5	V	29,706	23 (7,92)	83	222	<i>spathulanol</i>	WILEY 229

Identifikasi komponen-komponen senyawa kimia dalam minyak atsiri buah kemukus menggunakan alat GC-MS-QP2010S SHIMADZU menghasilkan 30 puncak kromatogram yang dapat dilihat pada gambar 7. Dari 30 puncak yang muncul dipilih 5 puncak yang merupakan puncak utama (lingkaran merah) yaitu nomor 10, 11, 12, 18, dan 23 yang masing-masing diperkirakan mengandung *alpha-cubebene*, *copaene*, *germacrene-D*, *1H-cycloprop[e]azulene*, dan *spathulanol*. Analisis kandungan minyak atsiri buah kemukus pada penelitian ini dilakukan dengan analisis spektra massa yang didasarkan pada "base peak" (puncak dasar) dan *Similarity Index (SI)* dengan perbandingan spektra dari NIST 62 dan Wiley 299.LIB. *Base peak* merupakan puncak yang paling besar limpahannya dalam spektrum dan diberi harga 100%. Jika nilai SI mendekati 100% maka senyawa yang terdeteksi memiliki tingkat kemiripan dengan data pembanding. *Peak* nomor 18 dipilih dikarenakan *peak* nomor 20 yang lebih tinggi sama dengan *peak* 12 yang diduga mengandung *germacrene D*.

Dari tabel 1 dapat diketahui bahwa minyak atsiri buah kemukus terdiri dari golongan *seskuiiterpen* yaitu *alpha cubebene*, *copaene*, *germacrene D*, *1H-cycloprop[e]azulene* dan *spatulanol*. Struktur senyawa penyusun minyak atsiri buah kemukus dapat dilihat pada gambar 8.



**Gambar 8.** Prediksi struktur kimia 5 senyawa dengan kelimpahan tertinggi menurut hasil GC-MS

Secara kimia, minyak atsiri buah kemukus terdiri dari senyawa golongan monoterpen dan seskuiterpen berupa isoprena C<sub>10</sub> dan C<sub>15</sub> dengan titik didih yang berbeda (titik didih monoterpen 140-180°C, titik didih seskuiterpen >200°C) (Padmawinata, 1987).

Senyawa pada puncak dasar 10 dengan waktu retensi 25,380 menit dan SI = 96 mirip dengan senyawa *alpha-cubebene* dengan rumus molekul C<sub>15</sub>H<sub>24</sub>. Spektrogram massa ligan I dan spektrogram massa senyawa *alpha-cubebene* dapat dilihat pada lampiran 5. Berdasarkan analisis data GC-MS, ligan I memiliki indeks kemiripan / *Similarity Index (SI)* (SI) = 96 dengan *alpha-cubebene*, sehingga ligan I dapat

dikatakan sebagai *alpha-cubebene*, yang merupakan senyawa golongan *seskuiterpen*.

Senyawa pada puncak dasar 11 dengan waktu retensi 26,203 menit dan SI=96 mirip dengan senyawa *copaene* dengan rumus molekul  $C_{15}H_{24}$ . Spektra massa ligan II dan spektra massa senyawa *copaene* dapat dilihat pada lampiran 5. Berdasarkan analisis data GC-MS, ligan II memiliki indeks kemiripan /*Similarity Index (SI)* = 96 dengan *copaene*, sehingga ligan II dapat dikatakan sebagai *copaene*, yang merupakan senyawa golongan *seskuiterpen*.

Senyawa pada puncak dasar 12 dengan waktu retensi 27,082 menit dan SI=95 mirip dengan senyawa *germacrene-D* dengan rumus molekul  $C_{15}H_{24}$ . Spektra massa ligan III dan spektra massa senyawa *germacrene-D* dapat dilihat pada lampiran 5. Berdasarkan analisis data GC-MS, ligan III memiliki indeks kemiripan (SI) = 95 dengan *germacrene-D*, sehingga ligan III dapat dikatakan sebagai *germacrene-D*, yang merupakan senyawa golongan *seskuiterpen*.

Senyawa pada puncak dasar 18 dengan waktu retensi 18,383 menit dan SI=97 mirip dengan senyawa *1H-cycloprop[e]azulene* dengan rumus molekul  $C_{15}H_{24}$ . Spektra massa senyawa *1H-cycloprop[e]azulene* dapat dilihat pada gambar 12. Berdasarkan analisis data GC-MS, ligan IV memiliki indeks kemiripan (SI) = 97 dengan *1H-cycloprop[e]azulene*, sehingga ligan IV dapat dikatakan sebagai *1H-cycloprop[e]azulene*, yang merupakan senyawa golongan *seskuiterpen*.

Senyawa pada puncak dasar 23 dengan waktu retensi 7,92 menit dan SI=83 mirip dengan senyawa *spathulanol* dengan rumus molekul  $C_{15}H_{24}O$ . Spektra massa senyawa *spathulanol* dapat dilihat pada lampiran 5. Berdasarkan analisis data GC-

MS, ligan V memiliki indeks kemiripan (SI) = 83 dengan *spathulanol*, sehingga, ligan V dapat dikatakan sebagai *spathulanol*, yang merupakan senyawa golongan *sesquiterpen*.

Hasil GC-MS menunjukkan bahwa 5 komponen utama dari minyak atsiri buah kemukus (*Piper cubeba L.f.*) yang dianalisis pada penelitian ini, berbeda dengan 5 komponen utama dari minyak atsiri buah kemukus yang dianalisis oleh penelitian-penelitian sebelumnya. Perbedaan hasil analisis GC-MS minyak atsiri dapat disebabkan oleh beberapa faktor, antara lain: perbedaan tempat/daerah pengambilan sampel, perlakuan pasca panen misal pengeringan dan penyimpanan, serta kondisi operasional alat yang digunakan dalam mendeteksi komponen tersebut khususnya kolom yang digunakan.

Komponen kimia dari minyak atsiri bervariasi tergantung daerah geografi, umur tanaman, iklim lokal, musim dan kondisi eksperimen (Yuksel *et.al.*, 2006; Senthilkumar, 2009). Selain itu juga perlakuan panen dan pasca panen dapat mempengaruhi komposisi minyak atsiri (Olonisakun *et.al.*, 2006).

#### **E. Hasil Analisis Uji Aktifitas Antibakteri**

Metode yang digunakan dalam uji antibakteri minyak atsiri buah kemukus adalah metode difusi. Metode difusi dilakukan dengan cakram kertas menggunakan bakteri *Shigella flexneri* yang merupakan bakteri yang bersifat patogen pada manusia. Uji antibakteri ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan minyak atsiri buah kemukus dalam menghambat pertumbuhan bakteri dengan mengetahui Kadar Hambat Minimal (KHM) suatu bakteri. Pengujian aktivitas antibakteri minyak atsiri buah kemukus dilakukan pada konsentrasi 80%, 40%, 20%, dan 10%. Metode

difusi ini dipilih karena pada metode ini pertumbuhan bakteri dapat teramati dengan jelas, sehingga dapat memudahkan dalam pengamatan terhadap bakteri uji. Diameter hambat pertumbuhan bakteri ini ditandai dengan zona bening disekitar cakram kertas, sedangkan warna keruh pada agar menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri. Pengujian antibakteri ini juga dilakukan pada kontrol negatif yang berupa pelarut dari sampel yaitu n-heksana, dan juga kontrol positif *Ciprofloxacin* 5 µg/ml. Pemilihan n-heksana, dikarenakan n-heksana tidak mempunyai aktivitas antibakteri dan bersifat nonpolar sama seperti minyak atsiri sehingga kedua senyawa tersebut dapat saling larut sesuai prinsip “*like dissolved like*”. N-heksana telah digunakan sebagai pelarut minyak atsiri umbi teki (*Cyperus rotundus L.*) (Solihah, 2008). Data aktivitas penghambatan minyak atsiri buah kemukus dapat dilihat pada tabel 2.

**Tabel 2.** Hasil Diameter Zona Inhibisi Masing-Masing Konsentrasi Minyak Atsiri

Zat Uji	Konsentrasi	Diameter Zona Inhibisi (DZI) (mm)			Rata-Rata DZI
		Rep. 1	Rep. 2	Rep. 3	
Minyak Atsiri	80%	12	10	11	11
	40%	10	10	9	9,5
	20%	9	8	8	8,5
	10%	8	8	8	8
Kontrol Positif	<i>Ciprofloxacin</i>	42	40	39	40,3
Kontrol Negatif	N-Heksana	0	0	0	0

Dari tabel 2 dapat dilihat bahwa semakin besar konsentrasi minyak atsiri buah kemukus maka semakin besar juga diameter zona inhibisi dan semakin besar aktivitas penghambatan pertumbuhan bakteri. Semakin besar konsentrasi zat yang terdapat pada cakram kertas akan memperbesar kemampuan difusi zat tersebut pada



media sehingga mempermudah penetrasi zat dalam menghambat pertumbuhan bakteri (Pelczar, 1986).

Menurut CLSI (*Clinical and Laboratory Standart Institute*) kekuatan antibakteri dibagi menjadi 3 yaitu *susceptible* (dapat diterima) jika menghasilkan diameter zona inhibisi lebih dari 21 mm, *intermediate* jika memiliki zona hambat antara 16 mm - 20 mm dan katagori resisten jika diameter zona inhibisi kurang dari 15 mm. Berdasarkan pengkategorian tersebut dalam penelitian ini diperoleh hasil pada konsentrasi 80% minyak atsiri buah kemukus yang merupakan konsentrasi tertinggi dengan rata-rata DZI tertinggi yaitu 11 mm dan masuk kategori resisten.

Aktivitas kerja minyak atsiri dalam menghambat pertumbuhan antibakteri yaitu dengan menghambat enzim topoisomerase II (DNA *gyrase*). Uji kontrol positif menggunakan antibiotik *Ciprofloxacin* dimana *Ciprofloxacin* merupakan terapi lini pertama untuk diare basiler.

*Ciprofloxacin* merupakan antibiotika bakteriosida yang bekerja dengan menghambat enzim topoisomerase II (DNA *gyrase*). Pengujian aktivitas antibakteri terhadap *Ciprofloxacin* dilakukan dengan konsentrasi 5 µg/ml. Dengan 3 kali replikasi menunjukkan diameter zona inhibisi sebesar 42 mm, 40 mm, dan 39 mm didapatkan hasil rata-rata 40,3 mm.

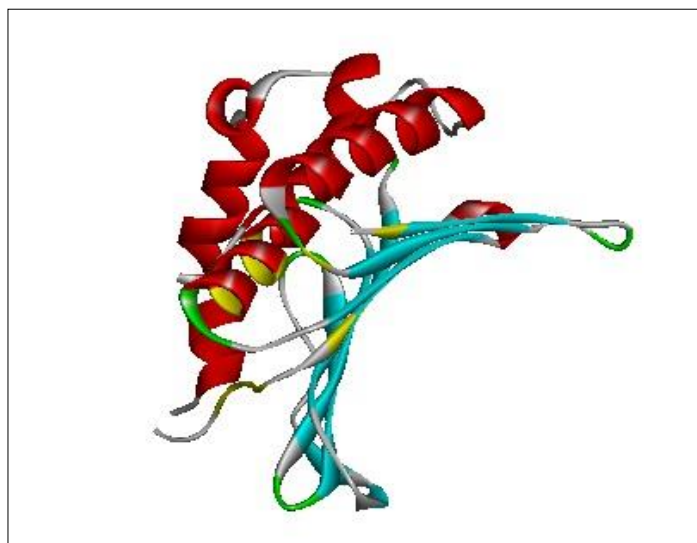
Selanjutnya untuk melihat signifikansi diantara hasil rata-rata setiap konsentrasi tersebut dilakukan uji normalitas data sebagai syarat pengujian. Dari hasil uji normalitas diketahui bahwa data yang digunakan pada penelitian ini berdistribusi normal ditunjukkan dengan nilai *P value* untuk DZI yaitu 0,689 ( $p > 0,05$ ) dan nilai *P*

*value* untuk konsentrasi yaitu 0,538 ( $p > 0,05$ ). Untuk mengetahui pengaruh antara masing-masing konsentrasi terhadap nilai DZI dilakukan uji *one way ANOVA*, diperoleh hasil nilai signifikansi 0,02 ( $p < 0,05$ ) yang berarti terdapat pengaruh yang signifikan antara besar konsentrasi terhadap nilai DZI.

## F. Hasil Analisis Uji Penambatan Molekul

### 1. Visualisasi Sisi Aktif DNA *gyrase* subunit B

Untuk mengetahui sisi aktif dari protein DNA *gyrase* subunit B maka dilakukan visualisasi protein target secara tiga dimensi melalui aplikasi *Discovery Studio Visualizer*. Hasil visualisasi ditunjukkan pada gambar 9.

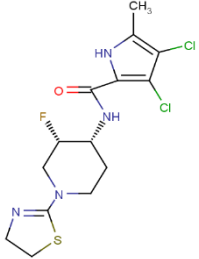
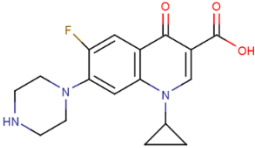
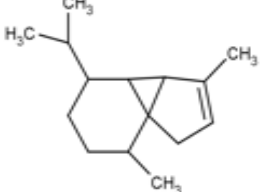
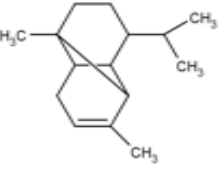
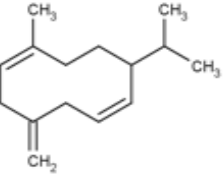
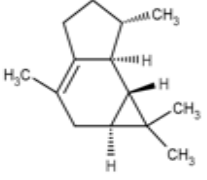


**Gambar 9.** Visualisasi sisi aktif protein DNA *gyrase* subunit B (3TTZ)

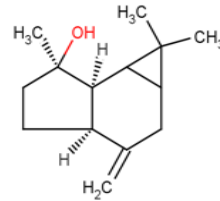
### 2. Visualisasi Ligan dengan *Marvin Sketch*

Ligan yang digunakan untuk sampel uji penambatan molekul adalah senyawa-senyawa seskuiterpen yang memiliki aktivitas antibakteri yang signifikan. Berdasarkan hasil uji aktivitas antibakteri diketahui pada konsentrasi minyak atsiri mulai 10% hingga 80% pertumbuhan bakteri *Shigella flexneri*. Pada Analisis GC-MS diketahui bahwa minyak atsiri buah kemukus memiliki kandungan senyawa seskuiterpen seperti mengandung *alpha-cubebene*, *copaene*, *germacrene-D*, *1H-cycloprop[e]azulene*, dan *spathulanol*. Dalam uji ini sebagai pembanding digunakan *Ciprofloxacin*.

**Tabel 3.** Visualisasi ligan menggunakan *Marvin Sketch*

Nama Ligan	Visualisasi
2-[(3 <i>S</i> ,4 <i>R</i> )-4-[(3,4-dichloro-5-methyl-1 <i>H</i> -pyrrol-2-yl)carbonylamino]-3-fluoropiperidin-1-yl]-1,3-thiazole-5-carboxylic acid	
<i>Ciprofloxacin</i>	
<i>alpha cubebene</i>	
<i>copaene</i>	
<i>germacrene-D</i>	
<i>1H-cycloprop[e]azulene</i>	

---

*spathulanol*

### 3. Interaksi Ligan terhadap Protein Target Visualisasi

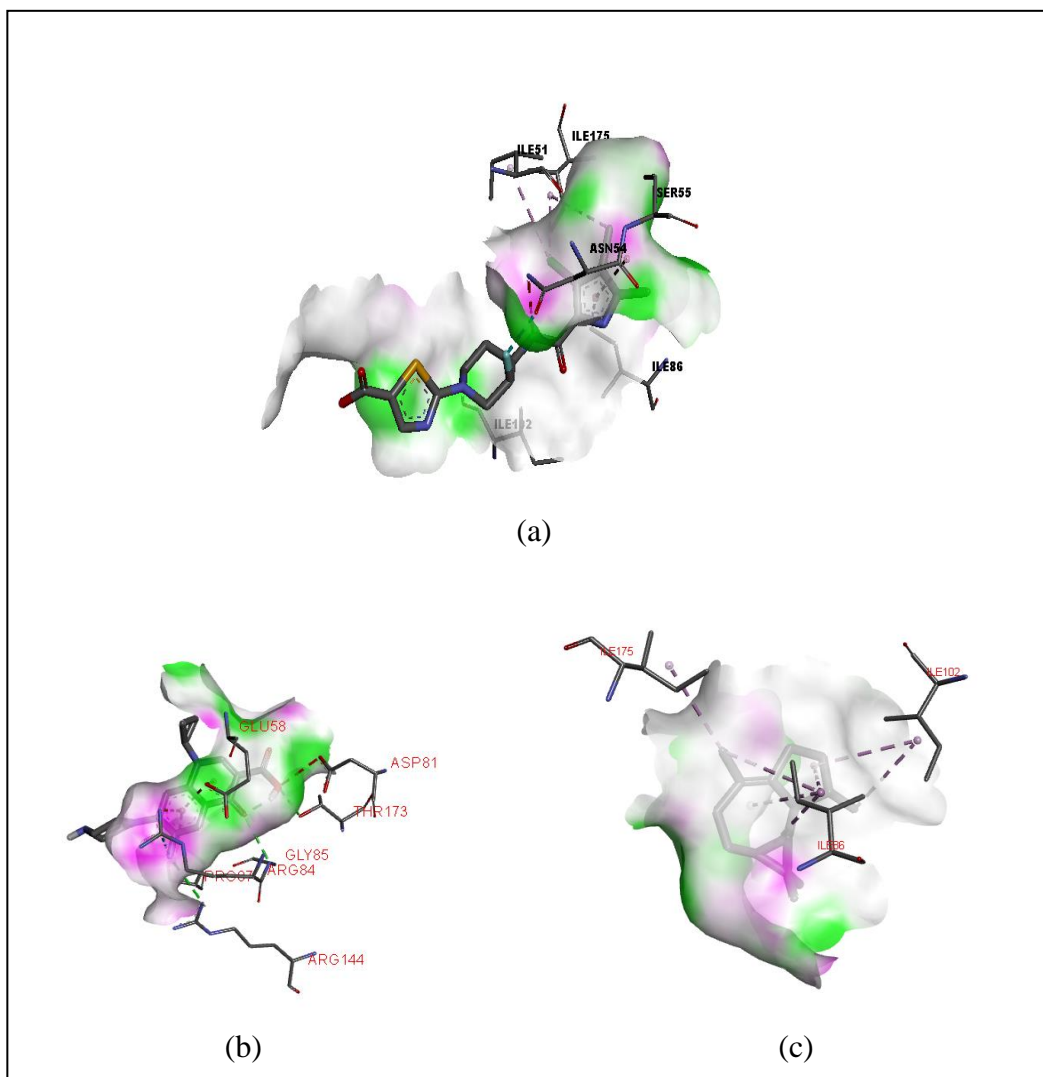
Hasil penambatan antara ligan dan protein target akan menghasilkan 9 konformasi yang berisi informasi energi dari masing-masing konformasi. Hal yang perlu diperhatikan dalam analisis hasil *docking* adalah melalui energi ikatan (*binding energy*). Konformasi terbaik dapat dilihat melalui fungsi *scoring* yang ditunjukkan dalam energi ikatan atau *binding energy* ( $\Delta G$ ) yang memiliki satuan dalam Kkal/mol. Nilai energi ikatan menggambarkan kekuatan ikatan yang terjadi antara ligan dan protein target.

Energi ikatan memiliki hubungan dengan konstanta inhibisi. Semakin kecil nilai konstanta inhibisi maka akan semakin kecil pula energi ikatan. Dari hal itu diketahui bahwa semakin kecil energi ikatan antara konstanta inhibisi, maka interaksi antara ligan dan enzim akan semakin disukai (Prasetia, 2011). Hasil skor penambatan molekul setiap konformasi setiap ligan terhadap protein target dapat dilihat pada lampiran 10. Sedangkan nilai energi ikatan dan konstanta inhibisi terbaik serta interaksi antara masing-masing ligan dengan protein target dapat dilihat pada tabel 4.

**Tabel 4.** Interaksi Ligan dengan Protein target

<b>Ligan</b>	<b>Energi Ikatan (Kkal/mol)</b>	<b>Protein</b>
<i>1H-cycloprop[e]azulene</i>	-7,3	ILE 86, ILE102, ILE175
<i>Ciprofloxacin</i>	-7,1	ASP81, GLU58, PRO87, GLY85, ARG84, ARG44, THR173
<i>alpha-cubebene</i>	-6,7	LEU205
<i>germacrene-D</i>	-6,7	ASN54, SER55, VAL79, GLU 58, ASP54
<i>Copaene</i>	-6,4	ILE86, ILE175
2-[(3S,4R)-4-[(3,4-dichloro-5-methyl-1H-pyrrol-2-yl)carbonyl]amino]-3-fluoropiperidin-1-yl]-1,3-thiazole-5-carboxylic acid	-6,2	ILE51, ILE 86, ILE 102, ILE175, SER55, ASN54
<i>Spathulanol</i>	-6,2	ILE86, PRO87

Berdasarkan tabel 4 senyawa yang memiliki energi ikatan paling tinggi adalah *1H-cycloprop[e]azulene* dengan energi ikatan sebesar -7,3 Kkal/mol dan mengikat residu dari protein target yaitu Isoleusin 86 (ILE86), Isoleusin 102(ILE102), Isoleusin 175 (ILE175). Residu ligan asli antara lain Isoleusin 51 (ILE51), Isoleusin 86 (ILE 86), Isoleusin 102 (ILE102), Isoleusin 175 (ILE175), Serin 55 (SER55), Asparagin 54 (ASN54) Residu ligan *Ciprofloxacin* (kontrol positif) antara lain *Aspartic acid* ke 81 (ASP81), Glutamic Acid 58 (GLU58), Prolin 58 (PRO87), Glisin 85 (GLY85), Arginin 84 (ARG84), Arginin 144 (ARG144) dan Threonine 173 (THR173). Hasil Visualisasi ditunjukkan pada Gambar 10.



**Gambar 10.** Hasil Visualisasi (a) Ligan Asli, (b) *Ciprofloxacin* dan (c) *1H-cycloprop[e]azulene*

## G. Pembahasan

Kemukus merupakan salah satu tanaman yang mengandung terpenoid yang merupakan metabolit sekunder pada tanaman yang memiliki efek farmakologis seperti antivirus, antibakteri, antimalaria, antiradang, penghambat sintesis kolesterol dan anti kanker (Nassar & Abdalrahim, 2010). Metode *Kirby Bauer* digunakan untuk menentukan sensitifitas bakteri terhadap antibakteri. Dalam penelitian ini digunakan media *Mac Conkey* dan menggunakan BHI (*brain heart infusion*) sebagai nutrien. Penggunaan *Mac Conkey* sebagai media dipilih karena media ini spesifik untuk bakteri gram negatif. Dalam metode ini digunakan cakram kertas untuk mengaplikasikan agen antibakteri. Cakram kertas yang telah diaplikasikan dengan masing-masing sampel selanjutnya akan menyerap masing-masing konsentrasi larutan uji. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan variasi konsentrasi bertujuan untuk mengetahui perbedaan nilai DZI antar konsentrasi. Nilai DZI dapat diinterpretasikan untuk mengetahui KHM konsentrasi minyak atsiri. KHM berfungsi untuk mengetahui konsentrasi minimal minyak atsiri yang dapat menghambat pertumbuhan *Shigella flexneri*. Konsentrasi yang digunakan adalah 10%, 20%, 40%, 80%.

Dalam penelitian aktivitas antibakteri ini digunakan kontrol positif *Ciprofloxacin* dan kontrol negatif n-heksana. Kontrol positif digunakan sebagai pembanding aktivitas antibakteri dengan antibiotik yang digunakan masyarakat. Sedangkan kontrol negatif berfungsi untuk mengetahui apakah



pelarut memiliki efek antibakteri atau tidak. Penggunaan *Ciprofloxacin* sebagai kontrol positif disamping karena merupakan terapi lini pertama pada pengobatan diare basiler juga dikarenakan *ciprofloxacin* dan anti bakteri minyak atsiri buah kemukus memiliki kesamaan mekanisme yaitu menghambat pertumbuhan DNA.

Hasil penelitian membuktikan bahwa masing-masing konsentrasi mulai dari konsentrasi 10% memiliki aktivitas antibakteri. Menurut CLSI menunjukkan antibiotik *Ciprofloxacin* sensitif terhadap bakteri keluarga *Enterobacteriaceae* apabila memiliki DZI >21 mm. Berdasarkan data yang didapat diketahui *Ciprofloxacin* masih sensitif terhadap bakteri *Shigella flexneri*. Nilai DZI masing-masing konsentrasi masuk kategori resisten karena memiliki DZI <15mm berdasarkan hal tersebut diketahui bahwa kekuatan penghambatan masing-masing konsentrasi masih lebih rendah dari *Ciprofloxacin* yang merupakan kontrol positif.

Uji identifikasi dilakukan secara GC-MS analisis GC digunakan kolom AGILENT J%W DB-1 yang merupakan kolom yang bersifat nonpolar. Fase diam nonpolar digunakan karena sampel yang digunakan adalah minyak atsiri yang bersifat nonpolar. Berdasarkan hasil identifikasi GC-MS ini minyak atsiri buah kemukus mengandung 5 senyawa tertinggi yaitu *alpha-cubebene*, *copaene*, *germacrene-D*, *1H-cycloprop[e]azulene*, dan *spathulanol* yang merupakan senyawa terpenoid. Mekanisme molekuler senyawa tersebut diteliti dengan uji *in silico* menggunakan *molecular docking*. Aplikasi yang digunakan dalam pengujian *in silico*

adalah *Autodock Vina*. Protein yang digunakan adalah DNA gyrase. Ligan yang digunakan dalam uji adalah *alpha-cubebene*, *copaene*, *germacrene-D*, *1H-cycloprop[e]azulene*, dan *spathulanol*. Berdasarkan uji tersebut senyawa yang diuji memiliki afinitas terhadap protein target. Senyawa *1H-cycloprop[e]azulene* dalam minyak atsiri buah kemukus memiliki afinitas terbaik dan memiliki aktifitas yang sama dengan antibiotik *Ciprofloxacin* yaitu menghambat protein DNA gyrase. Dalam minyak atsiri buah kemukus *Piper cubeba L.f.*, senyawa *1H-cycloprop[e]azulen* merupakan salah satu dari 5 senyawa dengan kelimpahan tertinggi dan juga merupakan senyawa yang paling potensial memiliki aktifitas penghambatan terhadap bakteri *Shigella flexneri* dengan nilai energi ikatan -7,3 Kkal/mol. Hal ini dikarenakan senyawa tersebut memiliki energi ikatan paling tinggi dan memiliki residu yang sama dengan ligan asli yaitu Isoleusin 86 (ILE86), Isoleusin 102 (ILE102), Isoleusin 175 (ILE175).