

Potensi Antibakteri Ekstrak Lempuyang Gajah (*Zingiber zerumbet*) terhadap *Staphylococcus aureus* melalui Pendekatan *In Vitro* dan *In Silico*

Dian Islamiyati^{1*}, Amelia Triska Wilandari², Sri Royani³

^{1*} Program Studi S1 Farmasi Klinik dan Komunitas, STIKes Bina Cipta Husada, Purwokerto, Indonesia

^{2,3} Program Studi D3 Farmasi, STIKes Bina Cipta Husada, Purwokerto, Indonesia

Email: ^{1*}dian@stikesbch.ac.id, ²ameliatriskawulandari25@gmail.com, ³sriroyani@stikesbch.ac.id

Abstract

Staphylococcus aureus infections remain a significant public health issue, exacerbated by increasing antibiotic resistance, highlighting the need to explore new antibacterial agents derived from natural sources. Lempuyang gajah is reported to contain several secondary metabolites with potential antibacterial activity, one of which is the compound zerumbone. This study aims to evaluate the antibacterial potential of Zingiber zerumbet extract against *S. aureus* using *in silico* and *in vitro* approaches. The research was conducted using molecular docking analysis and experimental antibacterial activity testing via the disk diffusion method. The *in silico* analysis was performed by docking zerumbone to the Clumping Factor A protein (PDB: 1N67) using PyRx 0.8. The Zingiber zerumbet extract was obtained via maceration using 70% ethanol as the solvent, and antibacterial testing was performed at extract concentrations of 25%, 50%, and 75%, with distilled water as the negative control and chloramphenicol as the positive control. The results showed an affinity value of -7.6 kcal/mol for zerumbone toward the target protein. *In vitro* test results showed that the extract produced average inhibition zones of 13.8 mm, 15.3 mm, and 16.7 mm at concentrations of 25%, 50%, and 75%, respectively. The research results indicate that the compound zerumbone is predicted to have the potential to interact with the Clumping Factor A protein, which is associated with *S. aureus* virulence. *In vitro*, the Zingiber zerumbet extract exhibits antibacterial activity against *S. aureus*.

Keywords: Lempuyang Gajah, *Staphylococcus Aureus*, Antibakteri, Zerumbone.

Abstrak

Infeksi *Staphylococcus aureus* masih menjadi salah satu permasalahan kesehatan yang diperburuk karena meningkatnya resistensi terhadap antibiotik, sehingga perlu adanya eksplorasi agen antibakteri baru dari bahan alam. Lempuyang gajah dilaporkan memiliki beberapa metabolit sekunder yang berpotensi memberikan aktivitas antibakteri, salah satunya senyawa zerumbone. Studi ini mempunyai tujuan mengevaluasi potensi antibakteri dari ekstrak rimpang lempuyang gajah terhadap bakteri *S. aureus* melalui pendekatan *in silico* dan *in vitro*. Penelitian dilakukan secara analisis molecular docking dan uji eksperimental aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram. Analisis *in silico* dilakukan dengan menambatkan zerumbone pada protein *Clumping Factor A* (PDB: 1N67) menggunakan PyRx 0.8. Ekstrak rimpang lempuyang gajah diperoleh melalui metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70% dan uji antibakteri dengan konsentrasi ekstrak 25%, 50%, dan 75%, dengan aquades sebagai kontrol negatif dan kontrol positif kloramfenikol. Hasil menunjukkan nilai afinitas dari zerumbone terhadap protein target sebesar -7,6 kcal/mol. Hasil uji *in vitro* menunjukkan bahwa ekstrak menghasilkan zona hambat rata-rata sebesar 13,8 mm, 15,3 mm, dan 16,7 mm masing-masing pada konsentrasi 25%, 50%, dan 75%. Hasil penelitian menunjukkan senyawa zerumbone diprediksi memiliki potensi interaksi dengan protein *Clumping Factor A* yang berkaitan dengan virulensi *S. aureus*. Secara *in vitro*, ekstrak rimpang lempuyang gajah memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus*.

Kata Kunci: Lempuyang Gajah, *Staphylococcus Aureus*, Antibakteri, Zerumbone.

1. PENDAHULUAN

Infeksi yang disebabkan bakteri terus menjadi masalah kesehatan dalam masyarakat. Infeksi bakteri *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) dapat menyerang berbagai jaringan tubuh manusia dan menimbulkan peradangan, nekrosis, serta pembentukan abses. Bakteri ini dapat menjadi penyebab terjadinya penyakit seperti bakteremia, endokarditis, infeksi kulit dan jaringan lunak, osteomielitis, arthritis septik, infeksi paru, peradangan pada saluran pencernaan, radang selaput otak, dan infeksi saluran kemih (Intan et al., 2021). Beban infeksi bakteri yang resisten terhadap antibiotik juga menunjukkan bahwa diperlukan pengembangan sumber antibakteri baru untuk mendukung penanganan infeksi secara lebih efektif (Naghavi, 2022).

S. aureus ialah bakteri Gram-positif yang mempunyai bentuk kokus yang umumnya tersusun menyerupai tandan anggur. Bakteri ini memiliki kemampuan beradaptasi terhadap lingkungan dan mengembangkan mekanisme resistensi terhadap berbagai golongan antibiotik (Touaitia et al., 2025). Salah satu permasalahan yang menjadi perhatian adalah keberadaan *methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA), yang menyebabkan infeksi dengan pilihan terapi yang lebih terbatas. Selain resistensi antibiotik, kemampuan *S. aureus* membentuk biofilm juga berperan dalam meningkatkan persistensi infeksi dan mengurangi efektivitas terapi (Brito et al., 2022). Situasi tersebut mendorong untuk melakukan penelitian mengenai pilihan antibakteri baru seperti yang berasal dari bahan alami dan tanaman obat.

Pemakaian bahan alam sebagai bagian dari kebutuhan masyarakat telah mengalami perkembangan sejalan dengan meningkatnya perhatian terhadap sumber daya hayati sebagai sumber senyawa bioaktif. Tren *back to nature* kini makin diminati karena dianggap memiliki efek samping lebih rendah serta tidak menimbulkan resistensi (Kamilah & Fatmawati, 2025). Salah satu strategi yang masih diteliti dalam upaya mencari kemungkinan antibakteri baru adalah pemanfaatan tumbuhan sebagai sumber senyawa bioaktif. Banyak metabolit sekunder, termasuk flavonoid, senyawa fenolik, terpenoid, alkaloid, dan minyak atsiri, diketahui terdapat dalam tumbuhan obat dan dapat menimbulkan berbagai efek biologis. Senyawa-senyawa tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri melalui gangguan terhadap membran sel, perubahan permeabilitas membran, penghambatan enzim penting, gangguan metabolisme sel, maupun interaksi dengan komponen seluler bakteri. Oleh karena itu, eksplorasi tanaman obat lokal sebagai sumber kandidat antibakteri menjadi penting dalam mendukung pengembangan bahan alam yang berpotensi untuk diaplikasikan dalam bidang farmasi.

Salah satu tanaman herbal yang dapat dikembangkan adalah lempuyang gajah. Rimpang tanaman ini banyak digunakan dalam pengobatan bahan alam karena mengandung berbagai senyawa dengan aktivitas biologis dan farmakologis yang penting. Beberapa kandungan metabolit sekundernya yaitu flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, steroid, dan triterpenoid (Khoiriyah et al., 2023). Salah satu komponen minyak atsiri utama pada *Zingiber zerumbet* adalah zerumbon, yaitu senyawa seskuiterpen siklik atau monosiklik yang diketahui memiliki aktivitas antibakteri. Selain itu, zerumbon juga memiliki berbagai efek farmakologis lain seperti antiinflamasi, antioksidan, antidiabetes, antikanker, analgesik, serta antivirus (Affandi & Dwi, 2024).

Aktivitas antibakteri ekstrak lempuyang gajah diduga berkaitan dengan keberadaan senyawa bioaktif yang mampu berinteraksi dengan komponen penting sel bakteri. Namun, aktivitas biologis ekstrak tanaman tidak hanya ditentukan oleh satu senyawa, melainkan dapat merupakan hasil interaksi berbagai metabolit yang terkandung di dalamnya (Chandra et al., 2026). Oleh karena itu, pengujian aktivitas antibakteri secara langsung terhadap bakteri target diperlukan untuk mengetahui kemampuan ekstrak dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus*. Pendekatan *in vitro* dapat dilakukan melalui metode

difusi untuk mengamati zona hambat. Data tersebut dapat memberikan gambaran empiris mengenai potensi antibakteri ekstrak Lempuyang gajah terhadap *S. aureus*.

Pengujian *in vitro* belum sepenuhnya menjelaskan mekanisme molekuler aktivitas antibakteri dari suatu senyawa. Teknik pengujian lain yang berfungsi untuk memprediksi interaksi antara senyawa biokatif tumbuhan dan protein target bakteri adalah metode *in silico* yang memanfaatkan docking molekuler. Docking molekuler mengidentifikasi residu asam amino yang terlibat dalam interaksi antara ligan dan protein target, serta memprediksi afinitas ikatan berdasarkan energi bebas ikatan (Islamiyati & Husen, 2025).

Kombinasi pendekatan secara *in vitro* dan *in silico* menyajikan informasi yang lebih lengkap terkait potensi antibakteri lempuyang gajah. Pengujian *in vitro* memberikan bukti biologis secara langsung terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus*, sedangkan pendekatan *in silico* memberikan informasi prediktif mengenai interaksi senyawa aktif pada tanaman lempuyang gajah dengan target molekul bakteri (Islamiyati et al., 2023). Integrasi kedua pendekatan tersebut diharapkan dapat memperkuat pemahaman mengenai potensi lempuyang gajah sebagai sumber antibakteri alami serta meberikan dasar ilmiah untuk penelitian lanjutan mengenai senyawa bioaktifnya.

Dari uraian tersebut, penelitian ini mempunyai tujuan menggunakan metode *in silico* dan *in vitro* untuk mengevaluasi sifat antibakteri dari ekstrak rimpang lempuyang gajah terhadap bakteri *S. aureus*. Pendekatan *in silico* digunakan untuk memprediksi interaksi antara senyawa bioaktif khususnya zerumbone dan protein target yang penting bagi kelangsungan hidup bakteri, sedangkan pendekatan *in vitro* digunakan untuk mengevaluasi kemampuan ekstrak tersebut dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus*. Hasil penelitian ini diharapkan dapat mendukung pengembangan senyawa alami sebagai alternatif dalam pencarian agen antimikroba baru serta memberikan wawasan ilmiah mengenai potensi Zingiber zerumbet sebagai sumber potensial agen antibakteri.

Kebaruan penelitian ini terletak pada integrase pendekatan secara *in silico* untuk memberikan gambaran aktivitas biologis sekaligus prediksi mekanisme interaksi molekul senyawa bioaktif rimpang lempuyang gajah dan pengujian secara *in vitro* aktivitas antibakteri ekstrak rimpang lempuyang gajah. Penelitian sebelumnya mengenai daun lempuyang gajah telah melaporkan keberadaan berbagai metabolit sekunder dan aktifitas biologisnya sebagai antibakteri *S. aureus* (Khoiriyah et al., 2023), tetapi kajian yang menghubungkan aktifitas antibakteri ekstrak rimpang lempuyang gajah secara langsung dengan prediksi interaksi senyawa terhadap zerumbone terhadap protein target *S. aureus* masih terbatas. Studi ini tidak hanya mengevaluasi kemampuan ekstrak rimpang dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*, tetapi juga mengeksplorasi interaksi zerumbone dengan target molekul bakteri melalui molekuler docking.

2. METODOLOGI PENELITIAN

2.1 Tahapan Penelitian

Penelitian ini merupakan kajian eksperimental deskriptif dengan metode *in silico* kemudian dilanjutkan dengan pengamatan metode *in vitro* dengan menganalisis deskriptif analitik ekstrak Lempuyang gajah tiga konsentrasi yang di uji antibakteri melalui metode difusi cakram. Studi *in vitro* ini dilakukan di Laboratorium Kimia Farmasi dan Mikrobiologi STIKes Bina Cipta Husada Purwokerto.

2.1.1 Uji *In Silico*

Struktur Senyawa zerumbone yang diunduh pada web <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> dalam bentuk 3D dan protein 1N67 diunduh pada database PDB <https://www.rcsb.org/> dalam bentuk 3D. 1N67 dipreparasi dengan *delete* molekul air menggunakan *Discovery Studio Visualizer* (DSV), residu dan *native ligand*

lalu *save* PDB. Preparasi ligan menggunakan aplikasi *PyRx 0.8* dengan cara ligan zerumbone tersebut di masukan dalam *load molecule* pada *software PyRx 0.8* melalui *system Open Babel* serta melakukan minimize energi senyawa protein tersebut. Selanjutnya *convert selected to AutoDock ligand* (pdbqt).

Validasi metode dengan redocking native ligand protein yang sudah dipreparasi. Parameter yang digunakan yaitu dengan parameter grid box dengan kordinat X: 25.3645, Y : 46.5364, Z : 66.2622 Dimensi X,Y, dan Z masing-masing 25.000 dengan senyawa allantodapsone sebagai standar ligan control (Singh et al., 2024), dan melihat hasil dari nilai RMSD (*Root mean square distances*). Jika didapatkan nilai RMSD ≤ 2 Å, maka disimpulkan metode docking yang digunakan dinyatakan valid dan penambatan ligan pada protein dapat dilakukan (Yuniati et al., 2023). Ligan zerumbone yang sudah dipreparasi kemudian di dockingkan pada protein 1N67 dengan aplikasi *PyRx 0.8* menggunakan sitem *Vina Wizard*. Pilih hasil yang didapatkan pada *analyze result* yang memiliki nilai afinitas terendah.

Visualisasi ikatan antara senyawa zerumbone dengan 1N67 yang memiliki nilai afinitas terendah divisualisasikan menggunakan aplikasi Discovery Studio Visualizer secara 3D dan 2D. Visualisasi secara 2D untuk melihat Ikatan Asam amino apa yang terjadi di antara senyawa zerumbone dengan protein 1N67.

2.1.2 Uji *In Vitro* Antibakteri

Pembuatan simplisia rimpang lempuyang gajah dibuat dengan mengambil sebanyak 2 kg dikumpulkan dari beberapa wilayah Somagede, Banyumas. Rimpang yang digunakan adalah rimpang yang sudah berusia 8-12 bulan, dipilih rimpang yang masih segar, tidak busuk, tidak berjamur, dan memiliki ukuran yang relatif seragam. Kemudian sampel dibersihkan dengan air bersih yang mengalir untuk membuang kotoran ada pada bahan, dan dilanjutkan dengan mengiris tipis-tipis dengan tebal minimal 3 mm untuk mempercepat proses pengeringan. Potongan rimpang dikeringkan dalam lemari pengering bersuhu 40–60°C. Jika sudah kering, rimpang diserbuk dengan memakai blender sampai halus. Serbuk kering ini yang akan dipakai untuk bahan baku proses ekstraksi (Astuti et al., 2024).

Ekstrak lempuyang gajah dibuat dengan metode maserasi 3x 24 jam dengan suhu ruang menggunakan 200 gram serbuk rimpang lempuyang gajah ditambah pelarut etanol 70% dengan perbandingan 1:10. Filtrat diuapkan dalam *waterbath* dengan suhu 700C hingga menjadi ekstrak kental. Ekstrak ini disimpan secara tertutup rapat dan diletakkan pada suhu rendah sebelum digunakan.

Pembuatan Media dengan menggunakan 2,8 gram nutrien agar (NA) dilarutkan kedalam 100 ml aquadest menggunakan *hot plate* dan diaduk dengan magnetic stirer hingga sampel larut yang ditandai dengan berubahnya warna menjadi bening dan terdapat gelembung di dasar erlenmeyer. Erlenmeyer diangkat dan mulut nya ditutup menggunakan kapas yang dibalut kain kasa dan ditutup menggunakan aluminium foil untuk di sterilkan. Kemudian sampel dituang ke cawan petri steril dan sampai mengeras (Rosmania & Yanti, 2020).

Pembuatan larutan sampel dengan menggunakan 3 konsentrasi yaitu 25%, 50% dan 75%. Pembuatan sampel dilakukan dengan menimbang dan mengencerkan ekstrak lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet*) di dalam wadah steril dengan pelarut aquades yang kemudian dicampur hingga 20 terbentuk larutan ekstrak dengan konsentrasi yang diinginkan. Larutan yang telah terbentuk kemudian dihomogenkan sampai diperoleh larutan yang seragam dan siap digunakan sebagai larutan uji. Penentuan jumlah ekstrak dan volume pelarut untuk masing-masing konsentrasi dilakukan dengan perhitungan tertentu.

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan cara Permukaan media diinokulasi secara merata dengan kawat ose steril yang sudah dicelupkan ke suspensi bakteri *S. aureus*. Cakram steril berdiameter kemudian ditambahkan larutan ekstrak dengan konsentrasi larutan sebesar 25%, 50%, dan 75%, masing-masing sebanyak 20 μ L. Cakram kontrol positif (+) menggunakan antibiotik kloramfenikol, sedangkan cakram kontrol negatif (-) diberi pelarut aquades. Semua cakram diletakkan pada permukaan media dengan jarak yang cukup, kemudian sampel yang sudah di inkubasi dengan suhu 37°C dalam kurun waktu 24 jam lalu diamati dan diamatannya diukur (zona bening di sekeliling cakram) dengan satuan milimeter memakai jangka sorong. Setiap perlakuan dilakukan tiga kali pengulangan untuk menjamin keakuratan data. Penentuan katagori kekuatan daya hambat dalam satuan millimeter (mm) didasarkan pada standar Davis & Stout (Davis & Stout, 1971).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Uji *In Silico* Senyawa Zerumbone

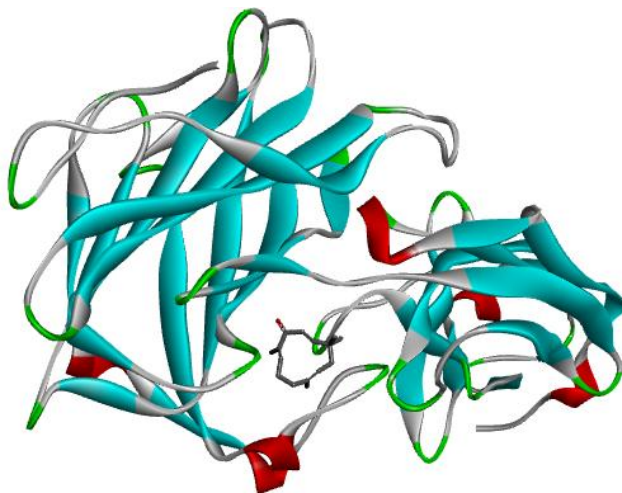
Zerumbone merupakan senyawa aktif alami yang telah dilaporkan dalam tumbuhan lempuyang gajah yang memiliki berbagai aktivitas biologis. Senyawa zerumbone ini hanya terdapat pada bagian rimpang lempuyang gajah saja dengan konsentrasi mencapai 1,275 μ g pada metode maserasi (Lallo et al., 2018). Protein 1N67 (*Clumping Factor A from Staphylococcus aureus*) adalah protein yang berperan penting untuk perkembangan bakteri *S. aureus* karena dikaitkan dengan factor virulensi *S. aureus*, sehingga interaksinya dengan senyawa bioaktif berpotensi mempengaruhi mekanisme yang berkaitan dengan virulensi dan kemampuan bakteri berinteraksi dengan inang (Bernhardt et al., 2024). Uji *in silico* menggunakan interaksi dari ligan zerumbone dengan protein 1N67 yang dapat mempengaruhi virulensi dari bakteri *S. aureus*.

Studi *In silico* berupa docking molekuler dilakukan dengan tujuan untuk memperoleh nilai binding affinity dari interaksi yang terjadi. Kekuatan interaksi hubungan antara ligan dan protein makromolekul ditunjukkan oleh nilai *binding affinity*, angka yang semakin kecil dari ikatan antara ligan zerumbone dan protein target menunjukkan interaksi yang semakin kuat dan lebih spontan antara protein target dan ligan zerumbone. Nilai RMSD yang didapatkan pada uji ini sebesar 0 Å, nilai RMSD yang rendah menandakan bahwa metode docking mampu memprediksi posisi dan orientasi native ligand secara akurat pada situs aktif protein (Ruswanto et al., 2018). Nilai *binding affinity* yang didapatkan sebesar -7,6 dimana hasil tersebut menunjukkan bahwa senyawa zerumbone memiliki kemampuan yang berpotensi sebagai salah satu antibakteri alami terhadap bakteri *S. aureus*.

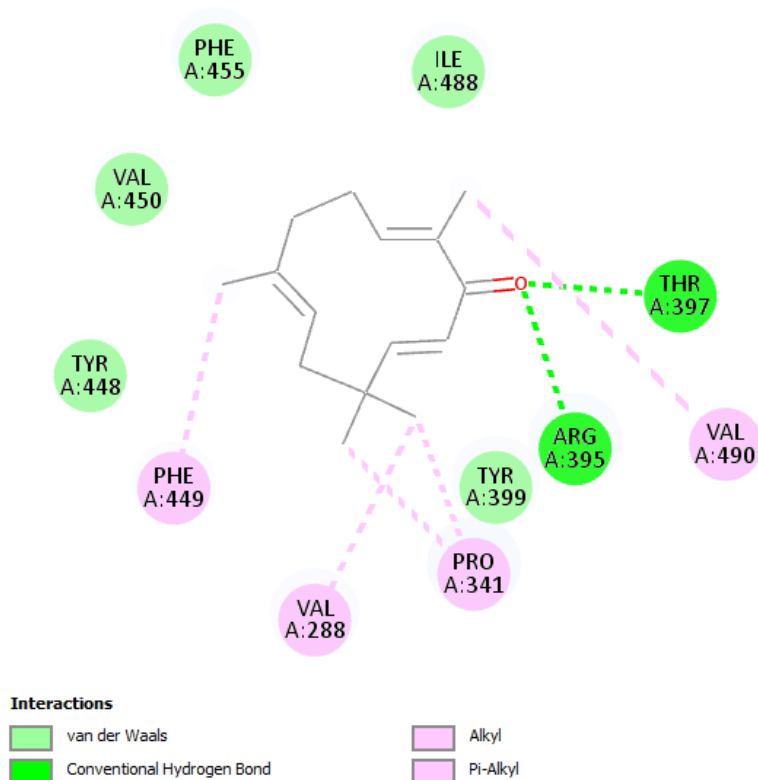
Visualisasi hasil penambatan molekul secara *in silico* dilakukan dengan menentukan senyawa yang memiliki nilai afinitas paling rendah menggunakan *software Discovery Studio Visualizer*. Hasil visualisasi dapat dilihat pada gambar 1 dan 2, gambar 2 menunjukkan interaksi 2D antara ligan dan protein membentuk ikatan residu asam amino dengan zerumbone. Interaksi ini menunjukkan adanya afinitas spesifik antara ligan zerumbone dengan protein target, yang menghambat fungsi protein target 1N67 pada *S. aureus*. Residu asam amino yang terbentuk juga mempunyai peran penting dalam stabilitas ikatan ligan zerumbone dengan protein 1N67 (Sari et al., 2020).

Pembentukan ikatan hydrogen antarmolekul yang menyebabkan interaksi antara molekulzerumbone dan residu asam amino pada reseptor protein target. Ikatan-ikatan ini terbentuk antara residu-residu tertentu pada makromolekul protein target dan gugus-gugus fungsional pada ligan (Islamiyati & Yuniati, 2025). Asam amino memfasilitasi interaksi antara ligan dan reseptor sehingga asam amino berinteraksi menjalankan fungsi penghambatan (T. Z. A. D. Putri et al., 2024). Interaksi yang terbentuk antara ligan

zerumbone dengan reseptor (gambar 2) diperoleh dua ikatan hydrogen konvensional dengan residu asam amino yaitu THR A:397 dan ARG A:395. Terbentuk 5 ikatan van der Waals dengan residu-residu asam amino pada kompleks zerumbone yaitu TYR A:399, TYR A:448, VAL A:450, PHE A:455, dan ILE A:488. Ikatan pi-alkyl dengan PHE A:449, VAL A:288, PRO A:341, VAL A:490.



Gambar 1. Visualisasi 3D molekuler docking senyawa zerumbone dengan protein *Clumping Factor A* (1N67)



Gambar 2. Visualisasi 2D interaksi senyawa zerumbone dengan protein *Clumping Factor A* (1N67)

Ikatan hydrogen ialah hubungan ikatan berupa atom H yang berikatan kovalen dengan atom elektronegatif seperti fluor , nitrogen dan oksigen. Ikatan hydrogen mempunyai binding affinity antara - 1 hingga - 7 kcal/mol tetapi terkadang berada pada kisaran -3 hingga -7 kcal/mol. Ikatan hydrogen memainkan peran krusial dalam spesifitas antara ligan dengan reseptor. Ikatan hidrogen yang dihasilkan semakin banyak, maka binding affinity suatu ligan terhadap reseptor semakin kuat (Muttaqin et al., 2019).

Ikatan *van der waals* berpengaruh pada interaksi antara cincin benzen dan interaksi rantai hidrokarbon pada reseptor. Walaupun ikatannya tidak kuat, namun hasil dari total ikatan *van der waals* menjadi faktor pengikat yang berperan. Interaksi hidrofobik terjadi ketika dua gugus nonpolar ligan dan reseptor saling mendekat dan berikatan, yang mengakibatkan molekul air menjadi tidak teratur serta tidak dapat bergabung dengan molekul air lainnya. Hal ini dapat meningkatkan entropi yang berakibat menurunnya energi ikatan sehingga dapat menstabilkan kompleks ligan-reseptor. Interaksi hidrofobik memiliki peran dalam menentukan kekuatan interaksi. Interaksi hidrofobik meliputi ikatan pi-pi, pi-alkil, pi-sigma, pi-sulfur, pi-anion dan pi-kation (T. Z. A. D. Putri et al., 2024).

3.2 Uji In Vitro Antibakteri Ekstrak Lempuyang Gajah

Ekstrak lempuyang gajah dibuat dengan menggunakan simplisia kering dengan menggunakan metode maserasi. Maserasi digunakan karena mudah dilakukan dan tidak memerlukan suhu tinggi sehingga zat aktif yang tidak tahan pemanasan tidak mengalami kerusakan (Handoyo, 2020) serta dapat menjaga kestabilan senyawa aktif yang tidak tahan panas seperti zerumbone dimana merupakan golongan senyawa flavonoid (Wahidah et al., 2021). Pelarut yang digunakan adalah etanol 70% dimana pelarut ini mampu menyari zat aktif yang memiliki polaritas dari semi-polar ke polar dan mempunyai indeks polaritas 5,2 (Padmasari et al., 2013).

Tabel 1. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Lempuyang Gajah

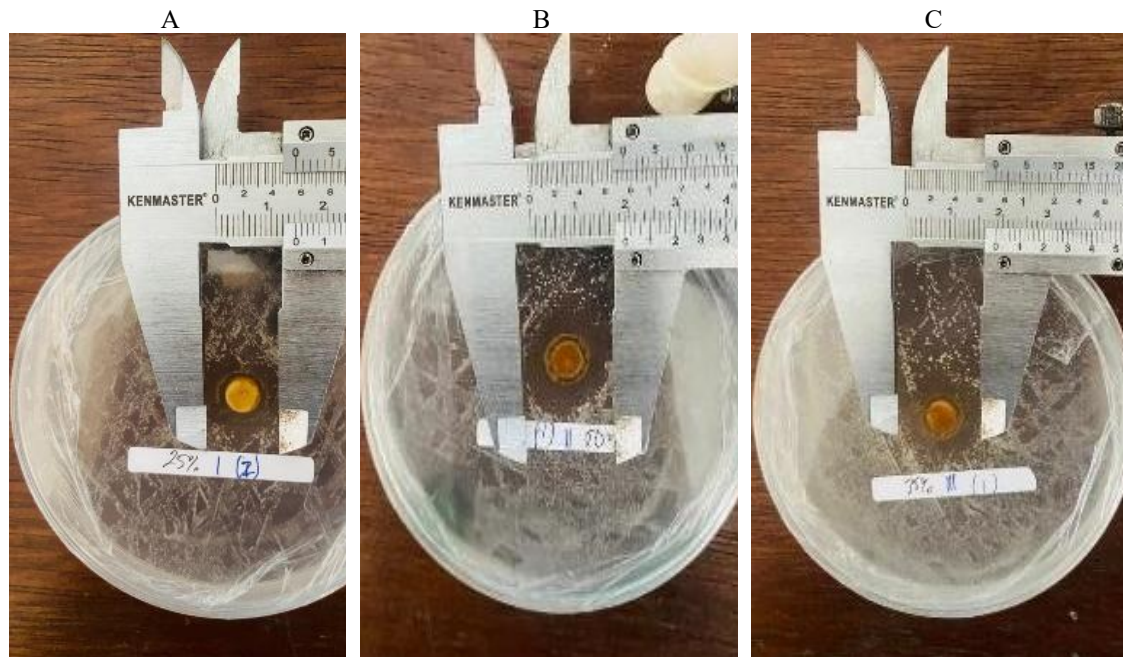
Konsentrasi	Replikasi (mm)			Rata-rata (mm)	Katagori
	1	2	3		
K+	33,5	31,5	32,1	32,2	Sangat kuat
K-	0	0	0	0	-
K1	16,9	12,5	12,1	13,8	Kuat
K2	12,5	14	16	15,3	Kuat
K3	12,1	14,8	17,3	16,7	Kuat

Hasil pengujian efektivitas antibakteri rimpang lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet*) dengan metode difusi cakram (tabel 1) menunjukkan bahwa konsentrasi 25%, 50%, 75% membentuk zona hambat tumbuhnya bakteri *S. aureus* secara linier sebesar 13,8 mm, 15,3 mm, dan 16,7 mm. Menurut Davis & Stout, 1971 menyebutkan bahwa rentang zona hambat masuk kedalam kategori kuat (Davis & Stout, 1971). Terbentuknya zona hambat pada penelitian ini adalah karena adanya senyawa aktif pada ekstrak rimpang lempuyang gajah yaitu senyawa flavonoid, alkaloid, steroid, terpenoid, dan saponin Dalam penelitian uji efektivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *S.aureus* terbentuk zona hambat meningkat sejalan dengan peningkatan konsentrasi larutan sampel yang diberikan pada saat diuji. Semakin tinggi konsentrasi larutan sampel, maka semakin banyak ekstrak yang digunakan.

Hasil pengamatan antibakteri pada ekstrak rimpang lempuyang gajah terhadap pertumbuhan *S. aureus* pada tabel 1. diketahui bahwa aktivitas antibakteri meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi larutan sampel. Aktivitas antibakteri yang paling rendah ada pada konsentrasi terkecil, yaitu 25% yang mempunyai rata-rata diameter zona hambat 13,8 mm. Menurut standar (Davis & Stout, 1971) angka tersebut masuk ke dalam rentang kuat. Kemudian disusul dengan ekstrak 50% yang memperoleh rata-rata zona hambat sebesar 15,3 mm dan kategori ini masih dalam rentang kuat. Kemudian untuk rentang yang paling baik ada pada konsentrasi 75% dengan rata-rata diameter zona hambat mencapai 16,7 mm yang juga masuk ke dalam kategori kuat. Hal tersebut dikarenakan semakin tinggi nya konsentrasi maka semakin tinggi pula senyawa aktif yang ada pada ekstrak etanol rimpang lempuyang gajah. Diameter zona hambat yang

terbentuk dikarenakan adanya kandungan senyawa antibakteri banyak terdapat pada konsentrasi yang lebih tinggi. Zona hambat pada ekstrak menunjukkan bahwa ekstrak mempunyai senyawa metabolit sekunder untuk efektivitas antibakteri (Astuti et al., 2024).

Ekstrak rimpang Lempuyang Gajah (*Zingiber zerumbet*) diketahui terdapat senyawa aktif yang berperan sebagai zat antibakteri, yaitu flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, steroid, dan triterpenoid (Rohmah et al., 2022). Masing-masing senyawa mempunyai mekanisme kerja yang berbeda dalam memperlambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*. Zerumbon sebagai senyawa khas dari lempuyang gajah merupakan senyawa turunan flavonoid yang mempunyai efektifitas antibakteri (Affandi & Dwi, 2024).



Gambar 3. Hasil uji Aktivitas Antibakteri ekstrak Lempuyang Gajah pada bakteri *S.aureus*. A. Konsentrasi 25%, B. Konsentrasi 50%, C. Konsentrasi 75%.

Metode pengujian pada aktivitas antibakteri yang dipakai merupakan metode difusi cakram. Difusi cakram dipilih karena umum digunakan untuk mengevaluasi aktivitas antibakteri suatu ekstrak, dan dapat dilakukan banyak pengujian dalam satu kali percobaan (Muhammad & Andriyanto, 2026). Prinsip metode difusi cakram adalah melihat kemampuan senyawa aktif dalam berdifusi ke dalam media agar, dimana cakram yang sudah berisi sampel dimasukan pada media NA yang sudah ditanam dengan bakteri dan menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* yang ditandai dengan adanya zona hambat disekeliling cakram (Dewi et al., 2023).

Kontrol (+) yang dipakai pada penelitian ini adalah kloramfenikol. Kloramfenikol dipilih karena kloramfenikol termasuk dalam antibiotik spektrum luas yang dapat mengobati infeksi yang penyebabnya bakteri gram positif atau bakteri gram negatif (N. K. N. L. Putri et al., 2023). sehingga dapat dipakai untuk infeksi yang penyebabnya bakteri *S. aureus* yang lapisan luar sel nya terdiri dari satu lapisan peptidoglikan jadi mudah ditembus oleh zat aktif (Yulianto, 2023). Penggunaan kontrol negatif pada penelitian ini adalah aquades, karena kontrol negatif harus sama dengan pelarut yang dipakai untuk 39 melarutkan sampel. Tujuannya adalah agar pelarut yang digunakan tidak terbentuk zona hambat dapat dibuktikan sehingga tidak mempengaruhi hasil uji antibakteri (N. K. N. L. Putri et al., 2023). Kontrol (-) aquades tidak terbentuk zona hambat, sehingga disimpulkan bahwa aquades tidak memiliki efek antibakteri dan tidak berpengaruh pada hasil uji antibakteri dari sampel.

Zona hambat pada konsentrasi 25%, 50%, 75% masih dibawah zona hambat yang terbentuk pada kontrol positif kloramfenikol. Kloramfenikol membentuk zona hambat terbesar di seluruh kelompok perlakuan. Berdasarkan *Clinical Laboratory Standards Institute* (CLSI), kloramfenikol dikategorikan sensitif jika adanya zona bening yang dihasilkan >18 mm, intermediet jika adanya zona bening 13-17 mm, dan katagori resisten apabila adanya zona hambat <12 mm. Pada penelitian ini dihasilkan rata-rata zona bening dari kloramfenikol sebesar 32,2 mm yang menandakan bahwa kloramfenikol dapat memperlambat tumbuhnya bakteri *S.aureus* sehingga bakteri ini memiliki sensitifitas terhadap kloramfenikol.

Pada penelitian ini zona hambat yang dihasilkan paling kuat yaitu pada konsentrasi ekstrak sebesar 75% yaitu 16,7 mm. Dibandingkan dengan studi (Maddeppungeng et al., 2023), dimana efktivitas ekstrak rimpang lempuyang gajah terhadap *Staphylococcus aureus* dengan metode pembuatan dermal patch, pada konsentrasi 28% menghasilkan zona hambat 14,61 mm terhadap bakteri *S. aureus*. Sedangkan studi yang dilakukan oleh Sutardi, menunjukkan bahwa ekstrak rimpang kering lempuyang gajah pada konsentrasi ekstrak 500 mg/ml yang menunjukkan zona hambat sebesar 17 mm, dan konsentrasi ekstrak 62,5 mg/ml yang menunjukkan zona hambat paling rendah yaitu 10 mm (Sutardi et al., 2015). Penelitian tersebut menunjukkan bahwa hasil studi ini selaras dengan penelitian oleh Sutardi yang menunjukkan bahwa pada konsentrasi 25% dan 50% menunjukkan aktivitas antibakteri dengan rentang yang kuat. Kandungan senyawa aktif pada tanaman juga dapat menjadi salah satu faktor internal dan eksternal pada penelitian, seperti intensitas cahaya matahari pada saat penanaman, suhu lingkungan, kelembapan, pH tanah, ataupun faktor lain saat pembuatan ekstrak dengan pemilihan pelarut yang kurang sesuai (Marliyana et al., 2025).

Hasil uji *in silico* menunjukan bahwa senyawa zerumbone memiliki potensi berinteraksi dengan protein *Clumping Factor A* (1N67) dengan binding affinity sebesar -7,6 kcal/mol dan dapat menjadi salah satu kandidat senyawa yang berkontribusi terhadap aktivitas biologis dari rimpang lempuyang gajah terhadap bakteri *S.aureus*. Temuan tersebut diperkuat dengan hasil dari uji *in vitro* yang mendapatkan hasil zona hambat sebesar 16,7 mm pada konsentrasi 75%, sehingga mengindikasikan adanya aktivitas antibakteri pada ekstrak lempuyang gajah terhadap *S.aureus*. Meskipun demikian, hasil molecular docking merupakan prediksi interaksi pada tingkat molekuler dan belum dapat membuktikan bahwa interaksi zerumbone dengan *Clumping Factor A* secara langsung menyebabkan terbentuknya zona hambat. Aktivitas antibakteri ekstrak kemungkinan merupakan hasil kontribusi dan interaksi berbagai metabolit sekunder yang terkandung dalam rimpang lempuyang gajah. Dengan demikian, integrasi kedua pendekatan tersebut memberikan bukti yang saling melengkapi mengenai potensi rimpang lempuyang gajah sebagai sumber kandidat antibakteri terhadap *S. aureus*, sekaligus memberikan dasar untuk penelitian lebih lanjut mengenai mekanisme molekuler zerumbone.

4. KESIMPULAN

Rimpang lempuyang gajah Secara *in silico* memiliki senyawa Zerumbone yang menunjukan potensi interaksi dengan protein *Clumping Factor A* (1N67) dari *S.aureus*. Hasil molecular docking menunjukan nilai afinitas sebesar -7,6 kcal/mol yang mengindikasikan adanya interaksi yang cukup kuat dan stabil antar zerumbone dengan protein target. Ekstrak rimpang Lempuyang Gajah (*Zingiber zerumbet*) menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus*, yang ditandai dengan terbentuknya diameter zona hambat meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak, yaitu sebesar 13,8 mm, 15,3 mm, dan 16,7 mm pada konsentrasi 25%, 50%, dan 75%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak memberikan kecenderungan

peningkatan kemampuan dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus*. Secara keseluruhan, integrasi hasil uji *in vitro* dan *in silico* menunjukkan bahwa ekstrak rimpang Lempuyang Gajah (*Zingiber zerumbet*) memiliki potensi sebagai antibakteri terhadap *S. aureus*, dengan zerumbone sebagai salah satu senyawa bioaktif yang diprediksi berkontribusi melalui interaksinya dengan protein *Clumping Factor A* yang berkaitan dengan adhesi dan virulensi bakteri. Namun, hasil *molecular docking* bersifat prediktif sehingga diperlukan penelitian eksperimental lebih lanjut untuk mengonfirmasi peran interaksi zerumbone dengan *Clumping Factor A* dalam mekanisme antibakteri terhadap *S. aureus*.

REFERENCES

- Affandi, R. I., & Dwi, B. hari S. (2024). *Potensi Tanaman Lempuyang (Zingiber zerumbet) Sebagai Immunostimulan Pada Ikan*. 4(April), 182–193.
- Astuti, W., Susanti, D., & Tutik. (2024). Uji ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi* L.) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli* MENGGUNAKAN METODE DILUSI. *Jurnal Ilmu Kedokteran Dan Kesehatan*, 11(5), 1038–1049. <https://doi.org/https://doi.org/10.33024/jikk.v11i5.13821>
- Bernhardt, G. V., Bernhardt, K., Shivappa, P., & Pinto, J. R. T. (2024). *Immunoinformatic prediction to identify Staphylococcus aureus peptides that bind to CD8 + T-cells as potential vaccine candidates*. 17, 1413–1422.
- Brito, F. A. E. De, Freitas, A. P. P. De, & Nascimento, M. S. (2022). *Multidrug-Resistant Biofilms (MDR): Main Mechanisms of Tolerance and Resistance in the Food Supply Chain*.
- Chandra, P. P. B., Laksmiawati, D. R., Swandiny, G. F., & Subangkit, M. (2026). PENGARUH KONSENTRASI ETANOL DAN VARIASI METODE EKSTRAKSI TERHADAP EKSTRAKSI SAMPEL BAHAN ALAM: REVIEW PUSTAKA. *Binawan Student JOurnal*, 8(2), 131–140. <https://doi.org/https://doi.org/10.54771/46080658> Cara
- Davis, W. W., & Stout, T. R. (1971). Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay. *American Society for Microbiology*, 22(4), 659–665.
- Dewi, L. P., Fuadiyah, W., Nirwana, L., Zulkarnain, A. R., & Faisal. (2023). Uji Aktivitas Anti Bakteri Eksrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia Coli* dengan Metode Difusi Sumuran dan Paper Disk. *Journal of Science, Engineering and Information Systems Research*, 1(4), 8–14.
- Handoyo, D. L. Y. (2020). Pengaruh Lama Waktu Maserasi (Perendaman) Terhadap Kekentalan Ekstrak Daun Sirih (*Piper Betle*). *Jurnal Farmasi Tinctura*, 2(1), 34–41. <https://doi.org/https://doi.org/10.35316/tinctura.v2i1.1546>
- Intan, K., Diani, A., & Suci, A. rizki N. (2021). *Aktivitas Antibakteri Kayu Manis (Cinnamomum burmanii) terhadap Pertumbuhan Staphylococcus aureus*. 8(2), 121–127.
- Islamiyati, D., & Husen, F. (2025). Perbandingan Aktivitas Antibakteri Kloramfenikol Terhadap Bakteri Gram Positif Dan Gram Negatif Secara In Silico Dan In Vitro. *Bina Cipta Husada*, 21(2), 1–8.
- Islamiyati, D., Husen, F., & Ina Ratnaningtyas, N. (2023). POTENSI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK *Moringa oleifera* (Lamk.) TERHADAP BAKTERI *ESCHERICHIA COLI* SECARA IN SILICO DAN IN VITRO. In *Jurnal Kesehatan Dan Science: Vol. XIX* (Issue 2).
- Islamiyati, D., & Yuniati, N. I. (2025). *SKRINING IN SILICO SENYAWA KIMIA PADA DAUN MIANA (Coleus blumei) SEBAGAI ANTIBIOFILM Bacillus subtilis*. 7(1), 62–68.
- Kamilah, R. H., & Fatmawati. (2025). *Pemanfaatan Produk Alam dalam Mengatasi Resistensi Antimikroba : Tinjauan Naratif Sistematis Menuju Inovasi Kesehatan Berkelanjutan*. 533–556.

- Khoiriyah, M. E., Widiyana, A. P., & W, D. N. (2023). Uji In Vitro Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Lempuyang Gajah (Zingiber zerumbet L .) terhadap Bakteri Staphylococcus aureus. *Bio Komplementer Medicine*, 10.
- Lallo, S., Kasim, S., Tayeb, R., Hasan, A. D., Sere, H., & Arifin, T. (2018). Analisis Zerumbone dalam Zingiber zerumbet dan Aktivitas Penghambatannya terhadap Bakteri Mycobacterium tuberculosis. *Farmasi Galenika*, 4(2), 126–132. <https://doi.org/10.22487/j24428744.2018.v4.i2.11138>
- Maddeppungeng, N. M., Tahir, K. A., Nurdin, N. C., & Wahyuni, S. (2023). Formulasi dan Evaluasi Dermal Patch Ekstrak Metanol Rimpang Lempuyang Gajah (Zingibe zerumbet L .) Sebagai Antibakteri Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus Secara In Vitro dan In Vivo. *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*, 9(2), 621–631. <https://doi.org/https://doi.org/10.35311/jmpi.v9i2.425>
- Marliyana, S. D., Handayani, D. S., Hayati, N. N., & Ramadhani, R. (2025). Antibacterial Activity of Zerumbone from Extract of Zingiber zerumbet (L .) Roscoe ex Smith Rhizomes. *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 10(1), 90–99.
- Muhammad, A., & Andriyanto, E. (2026). Analisis Komparatif Metode Difusi Sumuran dan Difusi Cakram dalam Evaluasi Aktivitas Antibakteri Ciprofloxacin terhadap Escherichia coli ATCC 35218. *Berkala Ilmiah Kedokteran Dan Kesehatan Masyarakat*, 4(1), 19–25. <https://doi.org/10.20885/bikkm.vol4.iss1.art3>
- Muttaqin, F. Z., Pratama, M. F., & Kurniawan, F. (2019). MOLECULAR DOCKING AND MOLECULAR DYNAMIC STUDIES OF STILBENE DERIVATIVE COMPOUNDS AS SIRTUIN-3 (SIRT3) HISTONE DEACETYLASE INHIBITOR ON MELANOMA SKIN CANCER AND THEIR TOXICITIES PREDICTION. *Journal of Pharmacopolium*, 2(2), 112–121.
- Naghavi, M. (2022). *Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019 : a systematic analysis*. 399. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)02724-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02724-0)
- Padmasari, P. D., Astuti, K. W., & Warditiani, N. K. (2013). Skrining fitokimia ekstrak etanol 70% rimpang bangle (Zingiber purpureum Roxb.). *Jurnal Farmasi Udayana*, 366, 1–7.
- Pratiwi, D. N., Utami, N., & Pratimasari, D. (2021). Identifikasi Senyawa Flavonoid dalam Ekstrak , Fraksi Polar , Semi Polar serta Non Polar Bunga Pepaya Jantan (Carica papaya L .). *Jurnal Farmasi*.
- Putri, N. K. N. L., Sasadara, V. maria malida, Cahyaningsih, E., & Santosa, P. (2023). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bulung Sangu (Gracilaria sp .) terhadap Bakteri Gram Negatif Pseudomonas aeruginosa. *Jurnal Integrasi Obat Tradisional*, 2(3), 105–111. <https://doi.org/https://doi.org/10.36733/usadha.v2i3.7262>
- Putri, T. Z. A. D., Findrayani, R. P., Isrul, M., & Lolok, N. (2024). Studi Molecular Docking Senyawa Kimia dari Herba Putri Malu (Mimosa pudica) Terhadap Inhibisi Enzim A-Glukosidase Sebagai Antidiabetes Melitus. *Pharmacia Mandala Waluyo*, 3(4), 225–233.
- Rohmah, J., Rini, C. S., Asri, N. I. N., & Krisdianti, R. (2022). Antibacterial Activity of Rhizome Extracts of Zingiber zerumbet (L .) Roscoeex Sm . Against Streptococcus pneumoniae. *Procedia of Social Sciences and Humanities*, 0672(c), 1007–1016. <https://doi.org/https://doi.org/10.21070/pssh.v3i.361>
- Rosmania, & Yanti, F. (2020). Perhitungan jumlah bakteri di Laboratorium Mikrobiologi menggunakan pengembangan metode Spektrofotometri. *Jurnal Penelitian Sains*, 22(2), 76–86.
- Ruswanto, R., Nofianti, T., Mardianingrum, R., & Lestari, T. (2018). Desain dan Studi In Silico Senyawa Turunan Kuwanon-H sebagai Kandidat Obat Anti-HIV. *Jurnal Kimia VALENSI*, 4(1), 57–66. <https://doi.org/10.15408/jkv.v4i1.6867>
- Sari, I. W., Junaidin, & Pratiwi, D. (2020). *STUDI MOLECULAR DOCKING SENYAWA FLAVONOID HERBA KUMIS KUCING (Orthosiphon stamineus B.) PADA RESEPTOR α-GLUKOSIDASE SEBAGAI ANTIDIABETES TIPE 2. VII(2), 54–60.* <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.47653/farm.v7i2.194>

- Singh, S. K., Bhattacharjee, M., Unni, B., Kashyap, R. S., Malik, A., Akhtar, S., & Fatimah, S. (2024). In silico testing to identify compounds that inhibit ClfA and ClfB binding to the host for the formulation of future drugs against *Staphylococcus aureus* colonization and infection. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, October, 1–8. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2024.1422500>
- Sutardi, L. N., Wientarsih, I., Handharyani, E., & Setiyono, A. (2015). Indonesian Wild Ginger (*Zingiber sp*) Extract : Antibacterial Activity against *Mycoplasma gallisepticum*. *IQSR Journal Of Pharmacy*, 5(10), 59–64.
- Touaitia, R., Mairi, A., Ibrahim, N. A., Basher, N. S., Idres, T., & Touati, A. (2025). *Staphylococcus aureus* : A Review of the Pathogenesis and Virulence Mechanisms. 2, 1–37.
- Wahidah, S. W., Fadhilah, K. N., Nahhar, H., Afifah, S. N., & Gunarti, N. S. (2021). Uji skrining fitokimia dari amilum familia zingiberaceae. *Jurnal Buana Farma*, 1, 1–4. <https://doi.org/10.36805/jbf.v1i2.105>
- Yulianto, D. (2023). Uji Efektivitas Antibakteri Seduhan Bunga KitoLOD (*Isotoma longiflora* (L .) Presl) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Forte Jurnal*, 03(2010), 28–32.
- Yuniati, N. I., Islamiyati, D., Khasanah, N. A., & Husen, F. (2023). Perbandingan Senyawa Kuersetin dan Kaempferol pada reseptor COX-2 sebagai agen antikanker kolorektal secara in-silico. *Jurnal Bina Cipta Husada*, XIX(1), 98–107.