

Integrasi Studi In Vitro dan In Silico dalam Evaluasi Potensi Antibakteri Ekstrak Etanol Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. *rubrum*) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Jackie Petrus Ambaruka^{a,1,*}, Iqbal Yusuf^a, Irfan Dwi Sasono^a

^a Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Jakarta, Indonesia

¹ Email : jp_ambaruk4@gmail.com

* Corresponding author

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Article history Received May 20, 2026 Revised June 3, 2026 Accepted June 16, 2026 Published June 30, 2026 Keywords <i>Zingiber Officinale</i> Var. <i>Rubrum</i> Antibacterial Activity <i>Escherichia Coli</i> <i>Staphylococcus Aureus</i> Dna Gyrase  License by CC-BY-SA Copyright © 2026, The Author(s).	Red ginger (<i>Zingiber officinale</i> var. <i>rubrum</i>) is a medicinal plant rich in phenolic compounds and has considerable potential as a natural antibacterial agent to address the growing challenge of antimicrobial resistance. This study aimed to evaluate the antibacterial activity of red ginger ethanolic extract against <i>Escherichia coli</i> and <i>Staphylococcus aureus</i> using an integrated <i>in vitro</i> and <i>in silico</i> approach. The extract was prepared by maceration with 96% ethanol and evaluated using the disk diffusion method at concentrations of 25%, 50%, 75%, and 100%. The data were analyzed using one-way analysis of variance (ANOVA), followed by Tukey's honestly significant difference (HSD) test at a significance level of $\alpha = 0.05$. The <i>in silico</i> analysis was performed through molecular docking against the DNA gyrase enzyme using four major bioactive compounds of red ginger, namely 6-gingerol, 8-gingerol, 10-gingerol, and 6-shogaol. The results demonstrated that increasing extract concentration significantly enhanced antibacterial activity ($p < 0.001$). The highest inhibition zones were observed at the 100% extract concentration, reaching 16.57 ± 0.42 mm against <i>E. coli</i> and 19.13 ± 0.35 mm against <i>S. aureus</i>, although chloramphenicol, used as the positive control, produced larger inhibition zones. <i>Staphylococcus aureus</i> exhibited greater susceptibility to the extract than <i>E. coli</i>. Molecular docking analysis revealed that all tested bioactive compounds showed favorable binding affinities toward DNA gyrase, with 10-gingerol exhibiting the lowest binding affinity (-8.0 kcal/mol), indicating the most stable ligand-protein interaction. The integration of <i>in vitro</i> and <i>in silico</i> findings suggests that the antibacterial activity of red ginger ethanolic extract may involve disruption of bacterial cell membrane integrity as well as potential inhibition of DNA gyrase. These findings support the potential application of red ginger as a promising natural antibacterial agent and provide a scientific basis for further investigations involving minimum inhibitory concentration (MIC), minimum bactericidal concentration (MBC), toxicity assessment, and instrumental characterization of its bioactive compounds.
How to cite: Ambaruka, J. P., Yusuf, I., & Sasono, D. S. (2026). Integrasi Studi In Vitro dan In Silico dalam Evaluasi Potensi Antibakteri Ekstrak Etanol Jahe Merah (<i>Zingiber officinale</i> var. <i>rubrum</i>) terhadap <i>Escherichia coli</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i>. <i>Pure Chemistry Research</i>, 2(1), 18-30. doi: https://doi.org/10.70716/purechem.v2i1.635	

PENDAHULUAN

Resistensi antimikroba (*antimicrobial resistance*, AMR) telah menjadi salah satu ancaman paling serius terhadap kesehatan masyarakat global karena secara signifikan menurunkan efektivitas antibiotik dalam mengendalikan penyakit infeksi. Kondisi ini menyebabkan meningkatnya angka kesakitan dan kematian, memperpanjang lama perawatan pasien, serta meningkatkan beban ekonomi pada sistem pelayanan kesehatan. Analisis global menunjukkan bahwa AMR berkontribusi terhadap sekitar 4,95 juta kematian dan secara langsung menyebabkan 1,27 juta kematian di seluruh dunia (Antimicrobial Resistance Collaborators, 2022). Selain itu, laporan terbaru memperkirakan bahwa tanpa intervensi yang memadai, dampak AMR terhadap kesehatan global akan terus meningkat hingga tahun 2050 sehingga menjadi salah satu tantangan utama dalam bidang kesehatan dan farmasi modern (GBD 2021 Antimicrobial Resistance Collaborators, 2024).

Di antara berbagai bakteri patogen, *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* merupakan dua spesies yang paling sering dilaporkan sebagai penyebab infeksi pada manusia. *E. coli* adalah bakteri Gram-negatif yang secara alami menghuni saluran pencernaan, tetapi beberapa strain patogen mampu menyebabkan infeksi saluran kemih, gastroenteritis, bakteremia, hingga sepsis. Struktur membran luar yang mengandung lipopolisakarida menjadikan bakteri Gram-negatif memiliki hambatan permeabilitas yang lebih tinggi

terhadap berbagai agen antimikroba. Sebaliknya, *S. aureus* merupakan bakteri Gram-positif oportunistik yang berperan sebagai penyebab infeksi kulit, jaringan lunak, pneumonia, osteomielitis, endokarditis, hingga infeksi sistemik. Kemampuan kedua bakteri tersebut membentuk biofilm, menghasilkan berbagai faktor virulensi, serta mengembangkan mekanisme resistensi antibiotik menyebabkan keduanya termasuk dalam kelompok patogen prioritas yang memerlukan pengembangan strategi terapi baru (Darby et al., 2023).

Meningkatnya prevalensi bakteri resisten merupakan konsekuensi dari penggunaan antibiotik yang tidak rasional pada bidang kesehatan, peternakan, maupun pertanian. Penggunaan antibiotik tanpa indikasi yang tepat, dosis yang tidak sesuai, penghentian terapi sebelum waktunya, serta pemanfaatan antibiotik sebagai pemacu pertumbuhan pada hewan ternak mempercepat proses seleksi bakteri resisten. Selain itu, kemampuan bakteri melakukan mutasi genetik dan transfer gen horizontal melalui plasmid maupun elemen genetik bergerak lainnya memungkinkan sifat resistensi menyebar dengan cepat antarbakteri. Oleh karena itu, eksplorasi senyawa antimikroba baru yang berasal dari sumber alam menjadi salah satu pendekatan yang banyak dikembangkan sebagai alternatif untuk menghadapi meningkatnya kasus resistensi antibiotik (Sari et al., 2023).

Produk alami telah lama menjadi sumber penting dalam pengembangan obat karena memiliki keragaman struktur kimia yang tinggi dan aktivitas biologis yang luas. Dibandingkan senyawa sintetis tunggal, ekstrak tanaman umumnya mengandung berbagai metabolit sekunder yang dapat bekerja melalui lebih dari satu target biologis sehingga berpotensi menghasilkan efek sinergis. Pendekatan ini dinilai menarik dalam pengembangan agen antibakteri karena mampu menurunkan kemungkinan munculnya resistensi akibat mekanisme kerja yang bersifat multitarget. Berbagai tanaman obat telah dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri, antioksidan, antiinflamasi, maupun imunomodulator yang berpotensi mendukung pengembangan fitofarmaka berbasis bahan alam (Shaukat et al., 2023; Yuandani et al., 2023).

Salah satu tanaman yang banyak mendapat perhatian adalah jahe (*Zingiber officinale* Roscoe), khususnya varietas jahe merah (*Zingiber officinale* var. *rubrum*). Dibandingkan varietas jahe lainnya, jahe merah diketahui memiliki kandungan senyawa fenolik dan minyak atsiri yang relatif lebih tinggi. Senyawa bioaktif utama yang telah berhasil diidentifikasi meliputi 6-gingerol, 8-gingerol, 10-gingerol, 6-shogaol, paradol, zingerone, serta berbagai komponen terpenoid. Berbagai penelitian menunjukkan bahwa senyawa-senyawa tersebut memiliki aktivitas biologis yang luas, antara lain sebagai antioksidan, antiinflamasi, imunomodulator, antidiabetes, antivirus, hingga antibakteri. Aktivitas tersebut berkaitan erat dengan kemampuan gugus fenolik untuk berinteraksi dengan membran sel, protein, maupun enzim target sehingga memengaruhi berbagai proses biologis pada mikroorganisme (Mao et al., 2019; Shaukat et al., 2023).

Potensi antibakteri jahe merah telah dibuktikan terhadap berbagai bakteri Gram-positif maupun Gram-negatif, termasuk *S. aureus*, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enterica*, dan *Helicobacter pylori*. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa ekstrak maupun minyak atsiri jahe mampu menghambat pertumbuhan bakteri melalui mekanisme yang meliputi peningkatan permeabilitas membran sel, gangguan pembentukan biofilm, serta interferensi terhadap metabolisme sel bakteri. Selain itu, aktivitas antibakteri jahe juga dipengaruhi oleh jenis pelarut, metode ekstraksi, kandungan senyawa aktif, serta konsentrasi ekstrak yang digunakan. Temuan-temuan tersebut menunjukkan bahwa jahe merah merupakan salah satu sumber bahan alam yang menjanjikan untuk dikembangkan sebagai kandidat antibakteri alami dalam menghadapi meningkatnya masalah resistensi antimikroba (Elbestawy et al., 2023; Kapelle et al., 2024).

Meskipun demikian, sebagian besar penelitian mengenai aktivitas antibakteri jahe merah masih terbatas pada pengujian *in vitro*, seperti pengukuran diameter zona hambat, *minimum inhibitory concentration* (MIC), dan *minimum bactericidal concentration* (MBC). Parameter tersebut memang mampu menggambarkan efektivitas ekstrak dalam menghambat pertumbuhan bakteri, tetapi belum memberikan informasi mengenai mekanisme molekuler yang mendasari aktivitas senyawa bioaktifnya. Selain itu, variasi metode ekstraksi, jenis pelarut, asal bahan tanaman, serta kondisi budidaya menyebabkan komposisi fitokimia ekstrak berbeda sehingga hasil penelitian sering kali sulit dibandingkan secara langsung. Oleh karena itu, diperlukan pendekatan yang mampu menghubungkan aktivitas biologis yang diamati secara eksperimental dengan interaksi senyawa aktif terhadap target molekuler bakteri.

Perkembangan *computer-aided drug discovery* (CADD) telah memberikan kontribusi besar dalam penelitian bahan alam melalui penggunaan metode *molecular docking*. Metode ini memungkinkan prediksi orientasi pengikatan (*binding pose*) suatu ligan terhadap protein target serta estimasi kekuatan interaksi berdasarkan nilai energi bebas pengikatan (*binding affinity*). Nilai *binding affinity* yang semakin negatif

menunjukkan afinitas interaksi yang semakin kuat sehingga dapat digunakan sebagai indikator awal dalam proses penyaringan kandidat senyawa bioaktif. Selain itu, *molecular docking* mampu mengidentifikasi residu asam amino yang berperan dalam pembentukan ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik, maupun interaksi elektrostatik yang berkontribusi terhadap stabilitas kompleks ligan–protein. Oleh karena itu, pendekatan *in silico* semakin banyak digunakan sebagai pelengkap pengujian biologis dalam penelitian pengembangan obat berbasis bahan alam.

Dalam penelitian antibakteri, DNA gyrase merupakan salah satu target molekuler yang paling penting karena enzim ini berperan dalam mengatur struktur superkoil DNA selama proses replikasi dan transkripsi. DNA gyrase termasuk kelompok topoisomerase tipe II yang hanya ditemukan pada bakteri sehingga menjadi target selektif berbagai antibiotik, termasuk golongan fluoroquinolon. Penghambatan aktivitas DNA gyrase akan mengganggu replikasi DNA sehingga pertumbuhan dan pembelahan sel bakteri tidak dapat berlangsung secara normal. Oleh sebab itu, identifikasi senyawa bioaktif tanaman yang mampu berinteraksi dengan DNA gyrase berpotensi menghasilkan kandidat antibakteri baru dengan mekanisme kerja yang berbeda dibandingkan antibiotik konvensional (Bush & Bradford, 2020).

Berdasarkan telaah terhadap penelitian-penelitian terdahulu, masih terdapat kesenjangan pengetahuan (*research gap*) mengenai hubungan antara aktivitas antibakteri ekstrak etanol jahe merah yang diamati melalui pengujian *in vitro* dengan mekanisme interaksi molekuler senyawa aktifnya terhadap protein target bakteri. Sebagian besar penelitian hanya melaporkan besarnya zona hambat tanpa mengevaluasi potensi interaksi senyawa bioaktif terhadap DNA gyrase maupun target molekuler lainnya. Akibatnya, mekanisme yang mendasari aktivitas antibakteri jahe merah belum dapat dijelaskan secara komprehensif. Integrasi pendekatan *in vitro* dan *in silico* diharapkan mampu memberikan informasi yang lebih mendalam mengenai hubungan antara aktivitas biologis ekstrak dengan mekanisme molekuler yang mendasarinya sehingga interpretasi hasil penelitian menjadi lebih kuat.

Kebaruhan (*novelty*) penelitian ini terletak pada integrasi pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol jahe merah (*Zingiber officinale* var. *rubrum*) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* menggunakan metode difusi cakram dengan analisis *molecular docking* terhadap DNA gyrase sebagai target molekuler. Berbeda dengan penelitian sebelumnya yang umumnya hanya mengevaluasi efektivitas ekstrak berdasarkan diameter zona hambat, penelitian ini menghubungkan hasil pengujian *in vitro* dengan prediksi interaksi empat senyawa bioaktif utama jahe merah, yaitu 6-gingerol, 8-gingerol, 10-gingerol, dan 6-shogaol, terhadap protein target bakteri. Pendekatan tersebut diharapkan memberikan dasar ilmiah yang lebih kuat dalam menjelaskan mekanisme antibakteri jahe merah sekaligus mendukung pengembangannya sebagai kandidat agen antibakteri alami berbasis bahan alam.

Berdasarkan uraian tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas antibakteri ekstrak etanol jahe merah terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* melalui pendekatan terpadu *in vitro* dan *in silico*. Pengujian *in vitro* dilakukan untuk menentukan efektivitas ekstrak berdasarkan diameter zona hambat, sedangkan analisis *molecular docking* digunakan untuk memprediksi afinitas pengikatan senyawa bioaktif terhadap DNA gyrase. Integrasi kedua pendekatan tersebut diharapkan mampu memberikan pemahaman yang lebih komprehensif mengenai mekanisme kerja antibakteri jahe merah serta menjadi dasar bagi pengembangan fitofarmaka sebagai alternatif dalam menghadapi meningkatnya resistensi antimikroba.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium yang mengintegrasikan pendekatan *in vitro* dan *in silico* untuk mengevaluasi aktivitas antibakteri ekstrak etanol jahe merah (*Zingiber officinale* var. *rubrum*) terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Pendekatan *in vitro* dilakukan melalui pengujian daya hambat ekstrak terhadap pertumbuhan bakteri menggunakan metode difusi cakram, sedangkan pendekatan *in silico* dilakukan menggunakan metode *molecular docking* untuk memprediksi afinitas dan pola interaksi senyawa bioaktif utama jahe merah terhadap protein target bakteri, yaitu DNA gyrase. Penelitian dilaksanakan secara bertahap yang meliputi preparasi bahan tanaman, ekstraksi senyawa aktif, pengujian aktivitas antibakteri, identifikasi senyawa bioaktif berdasarkan literatur dan basis data kimia, simulasi *molecular docking*, serta analisis statistik dan interpretasi hasil. Integrasi kedua pendekatan tersebut diharapkan mampu memberikan gambaran yang lebih komprehensif mengenai efektivitas antibakteri ekstrak etanol jahe merah beserta mekanisme molekuler yang mendasari aktivitas biologisnya.

Rimpang jahe merah segar diperoleh dari petani lokal, kemudian dipilih berdasarkan tingkat kematangan fisiologis yang relatif seragam serta bebas dari kerusakan mekanis maupun kontaminasi. Sampel dicuci menggunakan air mengalir untuk menghilangkan kotoran, diiris tipis dengan ketebalan yang relatif sama, kemudian dikeringkan pada suhu ruang hingga kadar air stabil untuk mencegah degradasi senyawa aktif akibat pemanasan berlebih. Simplisia kering selanjutnya dihaluskan menggunakan blender hingga diperoleh serbuk homogen. Sebanyak 500 g serbuk simplisia dimaserasi menggunakan etanol 96% dengan perbandingan bahan dan pelarut 1:10 (b/v) selama 72 jam pada suhu ruang disertai pengadukan setiap 24 jam agar proses difusi senyawa aktif berlangsung optimal. Filtrat hasil maserasi dipisahkan menggunakan kertas saring Whatman No. 1, kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40–50 °C hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak yang dihasilkan ditimbang untuk menghitung rendemen, disimpan dalam wadah gelap yang tertutup rapat, dan disimpan pada suhu 4 °C hingga digunakan pada tahap pengujian aktivitas antibakteri.

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan terhadap kultur murni *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* yang telah diremajakan pada media Nutrient Agar (NA). Suspensi bakteri dibuat menggunakan larutan NaCl fisiologis steril dan disesuaikan dengan standar kekeruhan McFarland 0,5 yang setara dengan sekitar $1,5 \times 10^8$ CFU/mL. Sebanyak 100 µL suspensi bakteri diinokulasikan secara merata pada permukaan media Mueller–Hinton Agar (MHA) menggunakan kapas steril. Ekstrak etanol jahe merah disiapkan dalam empat variasi konsentrasi, yaitu 25%, 50%, 75%, dan 100% (b/v). Kertas cakram steril berdiameter 6 mm direndam ke dalam masing-masing larutan ekstrak, kemudian diletakkan pada permukaan media yang telah diinokulasi bakteri. Kloramfenikol digunakan sebagai kontrol positif, sedangkan etanol 96% steril digunakan sebagai kontrol negatif. Seluruh cawan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam, kemudian diameter zona hambat diukur menggunakan jangka sorong digital pada tiga titik pengukuran yang berbeda dan dinyatakan sebagai nilai rata-rata dalam satuan milimeter (mm). Setiap perlakuan dilakukan sebanyak tiga kali ulangan sehingga data yang diperoleh memiliki tingkat presisi dan reliabilitas yang lebih baik.

Pendekatan *in silico* dilakukan terhadap empat senyawa bioaktif utama jahe merah, yaitu 6-gingerol, 8-gingerol, 10-gingerol, dan 6-shogaol yang dipilih berdasarkan laporan penelitian terdahulu mengenai aktivitas antibakterinya. Struktur tiga dimensi masing-masing ligan diperoleh dari basis data PubChem, kemudian dipersiapkan melalui proses optimasi geometri dan minimisasi energi sebelum dilakukan proses *docking*. Protein target berupa DNA gyrase bakteri diperoleh dari Protein Data Bank (PDB) dan dipersiapkan dengan menghilangkan molekul air, ligan ko-kristal, serta penambahan atom hidrogen polar dan muatan parsial sesuai kebutuhan simulasi. Simulasi *molecular docking* dilakukan menggunakan perangkat lunak AutoDock Vina untuk memprediksi afinitas pengikatan antara ligan dan protein target. Hasil simulasi dianalisis berdasarkan nilai *binding affinity*, jumlah ikatan hidrogen, jenis interaksi hidrofobik, serta residu asam amino yang berperan dalam pembentukan kompleks ligan–protein sehingga dapat diperkirakan potensi mekanisme antibakteri masing-masing senyawa bioaktif.

Data hasil pengujian aktivitas antibakteri dianalisis secara statistik menggunakan perangkat lunak SPSS versi 25.0. Sebelum dilakukan analisis komparatif, data diuji normalitas menggunakan uji Shapiro–Wilk dan homogenitas varians untuk memastikan pemenuhan asumsi analisis parametrik. Data yang memenuhi asumsi tersebut selanjutnya dianalisis menggunakan *One-Way Analysis of Variance* (ANOVA) pada taraf signifikansi 95% ($\alpha = 0,05$), kemudian dilanjutkan dengan uji *post hoc* Tukey HSD apabila diperoleh perbedaan yang signifikan antarperlakuan. Seluruh hasil pengujian disajikan sebagai rerata $\pm$ standar deviasi. Sementara itu, hasil *molecular docking* dianalisis secara deskriptif berdasarkan nilai *binding affinity* dan pola interaksi ligan–protein, kemudian dibandingkan dengan hasil pengujian *in vitro* untuk mengevaluasi keterkaitan antara kemampuan penghambatan pertumbuhan bakteri secara eksperimental dan potensi interaksi molekuler senyawa bioaktif jahe merah terhadap DNA gyrase.

Interpretasi akhir dilakukan dengan mengintegrasikan hasil pengujian *in vitro* dan *in silico* untuk memperoleh pemahaman yang lebih komprehensif mengenai potensi antibakteri ekstrak etanol jahe merah. Diameter zona hambat digunakan sebagai indikator efektivitas ekstrak dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, sedangkan nilai *binding affinity* dan karakteristik interaksi molekuler digunakan untuk menjelaskan kemungkinan mekanisme penghambatan pada tingkat molekuler. Pendekatan integratif ini diharapkan mampu memberikan bukti ilmiah yang lebih kuat mengenai hubungan antara aktivitas biologis ekstrak dengan afinitas senyawa bioaktif terhadap protein target, sehingga hasil

penelitian dapat menjadi dasar bagi pengembangan jahe merah sebagai kandidat agen antibakteri alami dalam mendukung upaya penanggulangan resistensi antimikroba.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengujian aktivitas antibakteri secara *in vitro* dilakukan untuk mengevaluasi kemampuan ekstrak etanol jahe merah (*Zingiber officinale* var. *rubrum*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri Gram-negatif *Escherichia coli* dan bakteri Gram-positif *Staphylococcus aureus*. Pengujian menggunakan metode difusi cakram karena metode ini telah terstandarisasi, memiliki tingkat reproduibilitas yang tinggi, serta banyak digunakan sebagai tahap awal dalam menilai potensi antibakteri suatu ekstrak kasar (*crude extract*). Efektivitas antibakteri ditentukan berdasarkan diameter zona bening (*zone of inhibition*) yang terbentuk di sekitar cakram kertas setelah inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Terbentuknya zona bening menunjukkan adanya senyawa aktif yang mampu berdifusi ke dalam media pertumbuhan dan menghambat proliferasi sel bakteri di sekitarnya.

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa seluruh konsentrasi ekstrak etanol jahe merah yang diuji mampu menghasilkan zona hambat terhadap kedua bakteri uji dengan diameter yang berbeda-beda. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan, semakin besar pula diameter zona bening yang terbentuk. Kondisi tersebut mengindikasikan bahwa aktivitas antibakteri ekstrak jahe merah bersifat bergantung pada konsentrasi (*dose-dependent response*), sehingga peningkatan jumlah senyawa bioaktif di dalam ekstrak berkontribusi terhadap meningkatnya kemampuan penghambatan pertumbuhan bakteri. Nilai rata-rata diameter zona hambat beserta standar deviasinya disajikan pada **Tabel 1**.

Table 1. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Jahe Merah terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Konsentrasi Ekstrak (%)	Diameter Zona Hambat <i>E. coli</i> (mm)	Diameter Zona Hambat <i>S.</i> <i>aureus</i> (mm)
25	9,43 ± 0,38 ^a	11,27 ± 0,45 ^a
50	11,87 ± 0,55 ^b	13,93 ± 0,21 ^b
75	14,23 ± 0,29 ^c	16,77 ± 0,51 ^c
100	16,57 ± 0,42 ^d	19,13 ± 0,35 ^d
Kontrol (+)	22,33 ± 0,15 ^e	22,37 ± 0,25 ^e
Kontrol (-)	0,00 ± 0,00 ^f	0,00 ± 0,00 ^f

Keterangan: Data merupakan nilai rerata ± standar deviasi ($n = 3$). Kontrol (+) menggunakan kloramfenikol, sedangkan kontrol (-) menggunakan etanol 96%. Huruf superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan nyata berdasarkan uji lanjut Tukey Honest Significant Difference (HSD) pada taraf kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$).

Berdasarkan data pada Tabel 1 terlihat bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak etanol jahe merah selalu diikuti oleh peningkatan diameter zona hambat terhadap kedua bakteri uji. Pada konsentrasi terendah, yaitu 25%, ekstrak mampu menghasilkan zona hambat sebesar 9,43 ± 0,38 mm terhadap *E. coli* dan 11,27 ± 0,45 mm terhadap *S. aureus*. Nilai tersebut menunjukkan bahwa meskipun pada konsentrasi rendah ekstrak telah memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri, efektivitasnya masih relatif terbatas dibandingkan konsentrasi yang lebih tinggi.

Seiring dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak menjadi 50%, 75%, hingga 100%, diameter zona hambat mengalami peningkatan yang konsisten. Pada konsentrasi 100%, zona hambat mencapai 16,57 ± 0,42 mm terhadap *E. coli* dan 19,13 ± 0,35 mm terhadap *S. aureus*. Pola peningkatan yang berlangsung secara bertahap tersebut menunjukkan adanya hubungan linier antara konsentrasi ekstrak dengan aktivitas antibakterinya. Dengan kata lain, semakin tinggi dosis ekstrak yang diberikan, semakin besar pula kemampuan ekstrak dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme.

Fenomena tersebut dapat dijelaskan melalui mekanisme difusi senyawa bioaktif di dalam media Mueller-Hinton Agar (MHA). Peningkatan konsentrasi ekstrak menyebabkan jumlah molekul metabolit sekunder yang tersedia menjadi lebih banyak sehingga gradien konsentrasi antara cakram dan media menjadi semakin tinggi. Kondisi ini mempercepat proses difusi senyawa aktif ke dalam media agar sehingga area yang terpapar senyawa antibakteri menjadi lebih luas. Semakin luas daerah difusi yang terbentuk, semakin besar

pula area pertumbuhan bakteri yang mengalami hambatan sehingga diameter zona bening meningkat secara nyata.

Selain dipengaruhi oleh proses difusi, peningkatan aktivitas antibakteri juga berkaitan dengan semakin tingginya jumlah senyawa bioaktif seperti gingerol, shogaol, flavonoid, senyawa fenolik, terpenoid, dan minyak atsiri yang terkandung di dalam ekstrak. Semakin besar konsentrasi ekstrak, semakin tinggi pula jumlah senyawa aktif yang mampu mencapai sel bakteri dan berinteraksi dengan target biologisnya. Akumulasi molekul aktif tersebut meningkatkan peluang terjadinya kerusakan membran sel, gangguan metabolisme, hingga terhambatnya proses pembelahan bakteri. Oleh karena itu, peningkatan diameter zona hambat yang diamati pada penelitian ini mencerminkan peningkatan efektivitas antibakteri seiring bertambahnya konsentrasi ekstrak.

Hasil penelitian ini sejalan dengan temuan Suhatri et al. (2022) yang melaporkan bahwa variasi konsentrasi ekstrak jahe merah berpengaruh langsung terhadap luas zona inhibisi yang dihasilkan. Penelitian tersebut menjelaskan bahwa peningkatan gradien konsentrasi mempercepat laju penetrasi senyawa fenolik ke dalam media kultur sehingga menghasilkan diameter zona hambat yang lebih besar. Kesesuaian hasil tersebut memperkuat dugaan bahwa mekanisme difusi senyawa bioaktif merupakan salah satu faktor utama yang menentukan efektivitas antibakteri ekstrak jahe merah.

Untuk memastikan bahwa perbedaan diameter zona hambat yang diperoleh benar-benar disebabkan oleh variasi konsentrasi ekstrak dan bukan akibat variasi acak selama proses eksperimen, seluruh data dianalisis menggunakan uji parametrik *One-Way Analysis of Variance* (ANOVA). Analisis ini dilakukan setelah data memenuhi asumsi distribusi normal dan homogenitas varians sehingga layak dianalisis menggunakan pendekatan parametrik. Hasil analisis varians ditampilkan pada **Tabel 2**.

Table 2. Hasil Analisis One-Way ANOVA Diameter Zona Hambat

Bakteri Uji	F-hitung	p-value
<i>Escherichia coli</i>	48,27	<0,001
<i>Staphylococcus aureus</i>	56,84	<0,001

Keterangan: Analisis varians dilakukan pada taraf kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$).

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa variasi konsentrasi ekstrak etanol jahe merah memberikan pengaruh yang sangat signifikan terhadap diameter zona hambat pada kedua bakteri uji. Nilai signifikansi yang diperoleh berada jauh di bawah batas $\alpha = 0,05$, yaitu $p < 0,001$. Hasil tersebut menunjukkan bahwa hipotesis nol yang menyatakan tidak adanya pengaruh konsentrasi ekstrak terhadap aktivitas antibakteri dapat ditolak, sehingga peningkatan diameter zona hambat yang diamati benar-benar merupakan akibat dari perlakuan konsentrasi ekstrak.

Nilai F-hitung sebesar 48,27 pada *E. coli* dan 56,84 pada *S. aureus* menunjukkan bahwa variasi antarperlakuan jauh lebih besar dibandingkan variasi yang terjadi di dalam masing-masing kelompok perlakuan. Dengan demikian, perubahan aktivitas antibakteri yang diamati bukan disebabkan oleh fluktuasi data eksperimen, melainkan dipengaruhi secara nyata oleh jumlah ekstrak yang diaplikasikan pada media. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak, semakin besar pula kandungan metabolit sekunder yang tersedia untuk menghambat pertumbuhan bakteri.

Hasil tersebut mendukung penelitian Pramiastuti dan Joharoh (2020) yang melaporkan bahwa penggunaan pelarut etanol sebagai pelarut polar mampu mengekstraksi metabolit sekunder jahe merah secara optimal sehingga menghasilkan aktivitas antibakteri yang meningkat seiring bertambahnya konsentrasi ekstrak. Kemampuan etanol dalam melarutkan senyawa fenolik, flavonoid, dan komponen bioaktif lainnya menjadi salah satu faktor yang berkontribusi terhadap tingginya efektivitas antibakteri ekstrak yang dihasilkan.

Karena hasil uji ANOVA menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan secara keseluruhan, analisis kemudian dilanjutkan menggunakan uji *Post Hoc Tukey Honest Significant Difference* (HSD). Uji ini bertujuan untuk mengetahui pasangan perlakuan mana saja yang berbeda nyata sehingga dapat diidentifikasi pengaruh setiap peningkatan konsentrasi ekstrak terhadap aktivitas antibakteri.

Tabel 3. Hasil Klasifikasi Kelompok Uji Lanjut Tukey HSD

Bakteri Uji	Konsentrasi (%)	Notasi Kelompok
<i>Escherichia coli</i>	25	a

Bakteri Uji	Konsentrasi (%)	Notasi Kelompok
<i>Staphylococcus aureus</i>	50	b
	75	c
	100	d
	25	a
	50	b
	75	c
	100	d

Keterangan: Huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan nyata pada taraf signifikansi $\alpha = 0,05$.

Hasil uji Tukey HSD menunjukkan bahwa seluruh konsentrasi ekstrak memiliki notasi huruf yang berbeda, yaitu a, b, c, dan d. Tidak adanya tumpang tindih antarhuruf menunjukkan bahwa setiap kenaikan konsentrasi, mulai dari 25% hingga 100%, menghasilkan peningkatan diameter zona hambat yang berbeda nyata secara statistik. Dengan demikian, setiap penambahan konsentrasi ekstrak memberikan kontribusi yang signifikan terhadap peningkatan aktivitas antibakteri.

Temuan tersebut mengindikasikan bahwa ekstrak etanol jahe merah memiliki sensitivitas dosis yang sangat baik. Peningkatan jumlah senyawa bioaktif di dalam ekstrak selalu diikuti oleh peningkatan kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri tanpa menunjukkan adanya kecenderungan plateau pada rentang konsentrasi yang diuji. Kondisi ini menjadi indikator bahwa ekstrak jahe merah masih memiliki potensi untuk menghasilkan aktivitas antibakteri yang lebih tinggi apabila dilakukan optimasi formulasi maupun proses ekstraksi pada penelitian berikutnya.

Hasil pengujian aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa *Staphylococcus aureus* memiliki tingkat sensitivitas yang lebih tinggi terhadap ekstrak etanol jahe merah dibandingkan *Escherichia coli*. Perbedaan tersebut tampak konsisten pada seluruh konsentrasi ekstrak yang diuji, di mana diameter zona hambat yang terbentuk pada *S. aureus* selalu lebih besar daripada *E. coli*. Pada konsentrasi ekstrak 25%, misalnya, zona hambat terhadap *S. aureus* mencapai $11,27 \pm 0,45$ mm, sedangkan pada *E. coli* hanya sebesar $9,43 \pm 0,38$ mm. Pola yang sama juga terlihat pada konsentrasi 50%, 75%, hingga 100%, sehingga menunjukkan bahwa bakteri Gram-positif memiliki tingkat kerentanan yang lebih tinggi terhadap senyawa bioaktif yang terkandung dalam ekstrak jahe merah.

Perbedaan sensitivitas tersebut erat kaitannya dengan karakteristik struktur dinding sel kedua kelompok bakteri. *Staphylococcus aureus* sebagai bakteri Gram-positif memiliki dinding sel yang didominasi oleh lapisan peptidoglikan yang relatif tebal dengan ketebalan sekitar 20–80 nm. Walaupun lapisan peptidoglikan tersebut cukup tebal, strukturnya tersusun atas jaringan polimer hidrofilik yang berpori sehingga memungkinkan berbagai molekul bioaktif berdifusi menuju membran plasma dengan hambatan yang relatif kecil. Selain itu, bakteri Gram-positif tidak memiliki membran luar (*outer membrane*) yang berfungsi sebagai penghalang tambahan terhadap masuknya senyawa antimikroba. Kondisi ini menyebabkan komponen aktif ekstrak jahe merah lebih mudah mencapai target biologis di dalam sel sehingga menghasilkan aktivitas penghambatan yang lebih tinggi.

Sebaliknya, *Escherichia coli* sebagai bakteri Gram-negatif memiliki struktur dinding sel yang lebih kompleks. Meskipun lapisan peptidoglikannya lebih tipis dibandingkan bakteri Gram-positif, lapisan tersebut dilindungi oleh membran luar yang kaya akan lipopolisakarida (LPS), fosfolipid, dan berbagai protein porin selektif. Membran luar tersebut berfungsi sebagai barier fisik sekaligus kimiawi yang mampu membatasi penetrasi berbagai senyawa antimikroba, terutama molekul yang berukuran besar maupun bersifat hidrofobik. Keberadaan lapisan pelindung ini menyebabkan proses difusi senyawa aktif dari ekstrak jahe merah menuju membran sitoplasma berlangsung lebih lambat sehingga efektivitas penghambatan pertumbuhan *E. coli* menjadi lebih rendah dibandingkan *S. aureus*.

Selain berfungsi sebagai penghalang difusi, kompleks lipopolisakarida pada membran luar *E. coli* juga mampu meningkatkan stabilitas dinding sel terhadap perubahan lingkungan. Struktur tersebut menjadikan bakteri Gram-negatif memiliki mekanisme pertahanan yang lebih baik ketika terpapar senyawa antibakteri alami. Oleh karena itu, meskipun ekstrak etanol jahe merah tetap mampu menghasilkan zona hambat terhadap *E. coli*, luas zona inhibisi yang terbentuk cenderung lebih kecil dibandingkan bakteri Gram-positif. Hasil penelitian ini sesuai dengan laporan Fitriani et al. (2023) yang menyatakan bahwa efektivitas ekstrak

jahe merah terhadap bakteri Gram-negatif sangat dipengaruhi oleh kemampuan molekul bioaktif melewati lapisan lipopolisakarida dan kanal porin pada membran luar bakteri.

Temuan tersebut juga sejalan dengan penelitian Santi et al. (2021) dan Darby et al. (2023) yang menjelaskan bahwa bakteri Gram-positif secara umum lebih rentan terhadap senyawa fenolik dan minyak atsiri dibandingkan bakteri Gram-negatif karena tidak memiliki membran luar sebagai penghalang difusi. Dengan demikian, perbedaan diameter zona hambat yang diperoleh pada penelitian ini tidak hanya menunjukkan adanya aktivitas antibakteri ekstrak jahe merah, tetapi juga mencerminkan pengaruh karakteristik biologis masing-masing bakteri terhadap efektivitas senyawa antimikroba yang diuji.

Aktivitas antibakteri ekstrak etanol jahe merah diperkirakan berasal dari keberadaan berbagai metabolit sekunder yang bekerja secara sinergis. Ekstrak kasar (*crude extract*) jahe merah diketahui mengandung kelompok senyawa fenolik, flavonoid, terpenoid, minyak atsiri, serta komponen utama berupa gingerol dan shogaol. Berbeda dengan antibiotik sintesis yang umumnya hanya memiliki satu target kerja, ekstrak jahe merah mengandung berbagai molekul aktif yang mampu menyerang beberapa target biologis bakteri secara bersamaan. Karakteristik tersebut memberikan keuntungan karena mekanisme penghambatan tidak hanya terfokus pada satu jalur metabolisme, tetapi berlangsung melalui berbagai mekanisme yang saling melengkapi.

Senyawa gingerol, khususnya 6-gingerol, 8-gingerol, dan 10-gingerol, bersama dengan 6-shogaol merupakan komponen fenolik utama yang berperan penting dalam aktivitas antibakteri jahe merah. Senyawa-senyawa tersebut memiliki gugus hidroksil yang terikat pada cincin aromatik serta rantai hidrokarbon yang memberikan sifat lipofilik cukup tinggi. Sifat tersebut memungkinkan molekul gingerol dan shogaol berinteraksi secara langsung dengan lapisan fosfolipid penyusun membran sitoplasma bakteri melalui interaksi hidrofobik.

Ketika molekul bioaktif memasuki membran sel, susunan fosfolipid mengalami perubahan orientasi sehingga integritas membran menjadi terganggu. Kerusakan struktur membran menyebabkan permeabilitas meningkat secara signifikan sehingga fungsi membran sebagai pengatur keluar masuknya berbagai molekul penting tidak lagi berjalan secara optimal. Akibatnya, membran kehilangan kemampuannya mempertahankan keseimbangan ion dan tekanan osmotik di dalam sel. Proses tersebut menjadi tahap awal terjadinya kerusakan fisiologis yang akhirnya berujung pada kematian bakteri (Auliani et al., 2022; Wang et al., 2020).

Meningkatnya permeabilitas membran memicu kebocoran berbagai komponen intraseluler yang sangat penting bagi kelangsungan hidup bakteri. Ion-ion esensial seperti kalium (K^+) dan magnesium (Mg^{2+}), bersama dengan molekul ATP, protein sitoplasma, enzim metabolisme, serta asam nukleat akan keluar secara tidak terkendali menuju lingkungan luar. Kehilangan komponen-komponen tersebut menyebabkan gradien elektrokimia membran menghilang, sintesis energi terhenti, proses transport nutrisi mengalami gangguan, dan metabolisme sel tidak lagi dapat berlangsung secara normal. Pada akhirnya, kerusakan yang bersifat irreversibel tersebut menyebabkan sel bakteri mengalami lisis dan kematian (Wahyuningtyas et al., 2023).

Selain merusak membran sel, gingerol juga diduga mampu mengganggu stabilitas protein melalui mekanisme denaturasi. Gugus hidroksil pada molekul gingerol dapat membentuk ikatan hidrogen dengan residu asam amino penyusun protein membran maupun enzim metabolisme bakteri. Interaksi tersebut mengubah konfigurasi tiga dimensi protein sehingga struktur sekunder dan tersiernya menjadi tidak stabil. Protein yang mengalami denaturasi kehilangan kemampuan katalitiknya sehingga berbagai proses metabolisme penting, termasuk respirasi sel, sintesis protein, serta pembelahan sel, tidak dapat berlangsung secara normal. Gangguan tersebut mempercepat terjadinya kematian sel bakteri akibat kegagalan menjalankan fungsi fisiologis yang esensial (Rahman et al., 2022; Elbestawy et al., 2023).

Keberadaan flavonoid dan senyawa fenolik lainnya juga memberikan kontribusi terhadap aktivitas antibakteri ekstrak jahe merah. Flavonoid diketahui mampu membentuk kompleks dengan protein membran maupun protein ekstraseluler sehingga meningkatkan permeabilitas membran dan mengganggu fungsi enzim yang berperan dalam metabolisme bakteri. Sementara itu, terpenoid dan minyak atsiri mampu berinteraksi dengan lapisan lipid membran sehingga mempercepat kerusakan struktur membran sitoplasma. Kombinasi berbagai mekanisme tersebut menghasilkan efek antibakteri yang bersifat multitarget, sehingga kemampuan penghambatan ekstrak jahe merah tidak hanya bergantung pada satu jenis senyawa aktif saja, melainkan merupakan hasil kerja sinergis dari berbagai metabolit sekunder yang terkandung di dalamnya.

Meskipun ekstrak etanol jahe merah menunjukkan aktivitas antibakteri yang meningkat seiring bertambahnya konsentrasi, diameter zona hambat yang dihasilkan pada konsentrasi tertinggi masih berada di bawah kontrol positif berupa kloramfenikol. Pada konsentrasi 100%, ekstrak menghasilkan zona hambat sebesar $16,57 \pm 0,42$ mm terhadap *E. coli* dan $19,13 \pm 0,35$ mm terhadap *S. aureus*, sedangkan kloramfenikol menghasilkan diameter zona hambat masing-masing sebesar $22,33 \pm 0,15$ mm dan $22,37 \pm 0,25$ mm. Perbedaan tersebut merupakan hasil yang wajar mengingat karakteristik kedua bahan yang dibandingkan sangat berbeda.

Kloramfenikol merupakan antibiotik murni yang telah dimurnikan sehingga hampir seluruh kandungannya terdiri atas satu senyawa aktif dengan target biologis yang sangat spesifik. Antibiotik ini bekerja dengan mengikat subunit ribosom 50S sehingga menghambat sintesis protein bakteri secara langsung. Karena memiliki kemurnian tinggi dan mekanisme kerja yang terarah, konsentrasi efektif senyawa aktif yang mencapai sel bakteri menjadi jauh lebih besar dibandingkan ekstrak tumbuhan.

Sebaliknya, ekstrak etanol jahe merah merupakan ekstrak kasar yang masih mengandung ratusan senyawa metabolit sekunder dengan komposisi yang sangat kompleks. Di dalam ekstrak tersebut tidak hanya terdapat senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri, tetapi juga berbagai komponen lain seperti karbohidrat, protein, pigmen, serat, maupun metabolit yang tidak berkontribusi secara langsung terhadap penghambatan bakteri. Akibatnya, proporsi senyawa aktif yang benar-benar berinteraksi dengan sel bakteri menjadi lebih kecil dibandingkan antibiotik murni. Kondisi inilah yang menyebabkan diameter zona hambat ekstrak belum mampu menyamai efektivitas kloramfenikol.

Meskipun demikian, potensi ekstrak jahe merah sebagai antibakteri alami tetap dapat dikategorikan baik dan menjanjikan. Berbeda dengan antibiotik sintetis yang bekerja pada satu target spesifik, ekstrak jahe merah memiliki mekanisme kerja multitarget karena mengandung berbagai kelompok senyawa bioaktif yang dapat menyerang membran sel, protein, enzim metabolisme, serta berbagai komponen penting lainnya secara bersamaan. Mekanisme kerja yang kompleks tersebut diperkirakan mampu mengurangi peluang bakteri mengembangkan resistensi melalui mutasi tunggal, karena bakteri harus melakukan adaptasi terhadap banyak target biologis sekaligus. Oleh sebab itu, ekstrak jahe merah memiliki prospek yang baik untuk dikembangkan sebagai sumber antibakteri alami maupun sebagai terapi pendamping (*adjuvant therapy*) yang dapat dikombinasikan dengan antibiotik konvensional dalam upaya menghambat peningkatan resistensi antimikroba. Temuan ini juga didukung oleh Assegaf et al. (2020) dan Sari et al. (2023), yang melaporkan bahwa ekstrak tumbuhan dengan kandungan metabolit sekunder yang beragam cenderung memiliki mekanisme penghambatan yang lebih kompleks sehingga berpotensi menekan perkembangan resistensi bakteri dibandingkan senyawa tunggal.

Untuk memperkuat interpretasi hasil pengujian *in vitro*, penelitian ini dilengkapi dengan pendekatan *in silico* melalui analisis *molecular docking*. Pendekatan komputasi tersebut bertujuan untuk mengevaluasi kemungkinan interaksi molekuler antara senyawa bioaktif utama jahe merah dengan protein target yang berperan penting dalam kelangsungan hidup bakteri. Pada penelitian ini dipilih enzim DNA gyrase sebagai target makromolekul karena enzim tersebut memiliki fungsi esensial dalam proses replikasi, transkripsi, serta pemeliharaan struktur superkoil DNA bakteri. Gangguan terhadap aktivitas DNA gyrase akan menyebabkan proses sintesis asam nukleat tidak berlangsung secara normal sehingga pertumbuhan dan pembelahan sel bakteri dapat terhenti. Oleh karena itu, enzim ini merupakan salah satu target yang banyak digunakan dalam pengembangan agen antibakteri baru.

Tabel 3. Hasil Molecular Docking Komponen Aktif Jahe Merah terhadap DNA Gyrase

Senyawa Bioaktif	CID PubChem	Binding Affinity (kkal/mol)	Jumlah Ikatan Hidrogen
6-Gingerol	442793	-7,2	3
8-Gingerol	168114	-7,5	3
10-Gingerol	6442560	-8,0	4
6-Shogaol	5281794	-7,4	2

Keterangan: Nilai *binding affinity* yang semakin negatif menunjukkan prediksi interaksi ligan–protein yang semakin kuat serta stabilitas termodinamika kompleks yang semakin tinggi.

Hasil simulasi *molecular docking* menunjukkan bahwa seluruh senyawa utama jahe merah mampu berinteraksi dengan kantung aktif (*binding pocket*) DNA gyrase. Hal tersebut ditunjukkan oleh seluruh nilai

binding affinity yang berada pada kisaran negatif, yaitu antara $-7,2$ hingga $-8,0$ kkal/mol. Nilai energi bebas pengikatan yang negatif mengindikasikan bahwa pembentukan kompleks antara ligan dan protein berlangsung secara spontan serta memiliki kestabilan termodinamika yang baik. Dengan demikian, seluruh senyawa bioaktif utama jahe merah diprediksi memiliki kemampuan untuk berikatan dengan DNA gyrase dan berpotensi mengganggu aktivitas biologis enzim tersebut.

Di antara seluruh senyawa yang diuji, 10-gingerol menunjukkan performa terbaik dengan nilai *binding affinity* sebesar $-8,0$ kkal/mol serta membentuk empat ikatan hidrogen dengan residu asam amino pada kantung aktif DNA gyrase. Nilai tersebut merupakan yang paling rendah dibandingkan senyawa lainnya sehingga menunjukkan bahwa 10-gingerol memiliki afinitas pengikatan paling tinggi terhadap protein target. Semakin negatif nilai *binding affinity*, semakin stabil kompleks ligan–protein yang terbentuk sehingga peluang terjadinya penghambatan aktivitas enzim juga diperkirakan semakin besar. Temuan ini memberikan indikasi bahwa 10-gingerol merupakan salah satu kandidat senyawa yang paling berkontribusi terhadap aktivitas antibakteri ekstrak etanol jahe merah.

Kekuatan interaksi yang ditunjukkan oleh 10-gingerol diperkirakan berkaitan dengan karakteristik struktur molekulnya. Dibandingkan dengan 6-gingerol maupun 8-gingerol, 10-gingerol memiliki rantai samping karbon alifatik yang lebih panjang sehingga memberikan fleksibilitas konformasi yang lebih tinggi. Fleksibilitas tersebut memungkinkan molekul menyesuaikan orientasinya ketika memasuki kantung aktif DNA gyrase sehingga menghasilkan interaksi yang lebih optimal dengan residu-residu asam amino penyusun protein. Penyesuaian bentuk molekul tersebut meningkatkan peluang terbentuknya kompleks yang lebih stabil melalui mekanisme *induced fit*, yaitu proses penyesuaian konformasi ligan maupun protein selama proses pengikatan berlangsung.

Selain ikatan hidrogen, kestabilan kompleks ligan–protein juga dipengaruhi oleh berbagai interaksi nonkovalen lainnya, seperti interaksi hidrofobik, *alkyl interaction*, dan π -*alkyl interaction* antara cincin aromatik gingerol dengan residu asam amino yang berada di sekitar kantung aktif DNA gyrase. Kombinasi berbagai jenis interaksi tersebut diperkirakan memperkuat kestabilan kompleks sehingga ligan mampu bertahan lebih lama pada lokasi aktif enzim. Kondisi tersebut berpotensi menghambat perubahan konformasi DNA gyrase yang diperlukan selama proses replikasi DNA bakteri sehingga aktivitas katalitik enzim menjadi terganggu. Meskipun demikian, hasil *molecular docking* hanya memberikan prediksi berdasarkan simulasi komputasi sehingga mekanisme tersebut tetap memerlukan validasi lebih lanjut melalui pengujian enzimatik maupun pendekatan biologis lainnya (Bush & Bradford, 2020; Shaukat et al., 2023).

Hasil penelitian menunjukkan adanya hubungan yang saling mendukung antara pengujian aktivitas antibakteri secara *in vitro* dengan analisis *molecular docking*. Pada pengujian laboratorium, peningkatan konsentrasi ekstrak etanol jahe merah menghasilkan diameter zona hambat yang semakin besar terhadap kedua bakteri uji. Hasil tersebut mengindikasikan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak, semakin besar pula jumlah senyawa bioaktif yang tersedia untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Di sisi lain, analisis *molecular docking* memperlihatkan bahwa seluruh senyawa utama jahe merah memiliki afinitas pengikatan yang baik terhadap DNA gyrase, terutama 10-gingerol yang menunjukkan nilai *binding affinity* paling rendah.

Kesesuaian antara kedua pendekatan tersebut memberikan dukungan mekanistik terhadap aktivitas antibakteri ekstrak jahe merah. Peningkatan diameter zona hambat yang diamati pada pengujian *in vitro* diduga tidak hanya disebabkan oleh kerusakan membran sel bakteri, tetapi juga berkaitan dengan kemampuan senyawa bioaktif mengganggu fungsi DNA gyrase yang berperan penting dalam replikasi materi genetik. Dengan demikian, mekanisme antibakteri ekstrak jahe merah diperkirakan berlangsung melalui lebih dari satu jalur biologis, yaitu kerusakan struktur membran sel sekaligus gangguan terhadap sistem replikasi DNA. Mekanisme multitarget tersebut menjadi salah satu keunggulan ekstrak tumbuhan dibandingkan senyawa sintesis yang umumnya bekerja pada satu target molekuler tertentu.

Meskipun simulasi *molecular docking* belum dapat membuktikan secara langsung bahwa penghambatan DNA gyrase benar-benar terjadi di dalam sel bakteri, hasil komputasi yang diperoleh memberikan dasar ilmiah yang kuat untuk menjelaskan mekanisme kerja senyawa bioaktif jahe merah. Oleh karena itu, integrasi pendekatan *in vitro* dan *in silico* pada penelitian ini mampu menghasilkan interpretasi yang lebih komprehensif dibandingkan apabila hanya menggunakan salah satu metode saja.

Walaupun penelitian ini menunjukkan hasil yang menjanjikan, beberapa keterbatasan masih perlu diperhatikan dalam menginterpretasikan temuan yang diperoleh. Identifikasi senyawa bioaktif utama masih

didasarkan pada informasi dari berbagai literatur serta simulasi *molecular docking*, sehingga komposisi kimia ekstrak yang digunakan belum diverifikasi secara langsung menggunakan instrumen analisis seperti Gas Chromatography–Mass Spectrometry (GC–MS) maupun Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry (LC–MS/MS). Analisis tersebut diperlukan untuk memastikan keberadaan, kadar, serta proporsi masing-masing senyawa bioaktif di dalam ekstrak yang digunakan pada penelitian ini.

Selain itu, evaluasi aktivitas antibakteri masih terbatas pada metode difusi cakram sehingga hanya menghasilkan informasi berupa diameter zona hambat. Metode tersebut belum mampu memberikan data kuantitatif mengenai konsentrasi minimum yang diperlukan untuk menghambat maupun membunuh bakteri. Oleh karena itu, penelitian lanjutan perlu dilengkapi dengan pengujian Minimum Inhibitory Concentration (MIC) dan Minimum Bactericidal Concentration (MBC) agar potensi antibakteri ekstrak dapat dievaluasi secara lebih akurat.

Penelitian berikutnya juga disarankan melakukan isolasi senyawa aktif berbasis aktivitas biologis (*bioassay-guided isolation*), pengujian kinetika kematian bakteri (*time-kill assay*), serta evaluasi toksisitas terhadap sel mamalia (*cytotoxicity assay*). Pendekatan tersebut diperlukan untuk memastikan keamanan penggunaan ekstrak sekaligus mengidentifikasi senyawa yang memberikan kontribusi terbesar terhadap aktivitas antibakteri yang diamati.

Penelitian ini memiliki nilai kebaruan karena mengintegrasikan pendekatan *in vitro* dan *in silico* dalam mengevaluasi aktivitas antibakteri ekstrak etanol jahe merah terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Pengujian *in vitro* memberikan bukti biologis mengenai kemampuan ekstrak dalam menghambat pertumbuhan bakteri melalui pembentukan zona hambat, sedangkan analisis *molecular docking* memberikan penjelasan awal mengenai kemungkinan mekanisme molekuler yang mendasari aktivitas tersebut melalui interaksi senyawa bioaktif dengan DNA gyrase.

Pendekatan integratif ini menghasilkan pemahaman yang lebih komprehensif mengenai mekanisme kerja ekstrak jahe merah dibandingkan penelitian yang hanya berfokus pada salah satu pendekatan. Selain menunjukkan efektivitas biologis ekstrak terhadap bakteri patogen, penelitian ini juga memberikan dasar teoritis mengenai kemungkinan target molekuler yang terlibat dalam proses penghambatan. Informasi tersebut dapat menjadi landasan bagi penelitian lanjutan yang berfokus pada pengembangan senyawa aktif jahe merah sebagai kandidat antibakteri alami.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol jahe merah memiliki aktivitas antibakteri yang meningkat secara signifikan seiring bertambahnya konsentrasi ekstrak. Aktivitas tersebut diduga berasal dari kerja sinergis berbagai metabolit sekunder yang mampu merusak membran sel bakteri sekaligus berpotensi menghambat aktivitas DNA gyrase berdasarkan hasil simulasi *molecular docking*. Meskipun efektivitasnya masih berada di bawah antibiotik standar berupa kloramfenikol, mekanisme kerja yang bersifat multitarget memberikan prospek yang menjanjikan bagi pengembangan ekstrak jahe merah sebagai sumber antibakteri alami. Dengan demikian, penelitian ini memberikan kontribusi ilmiah yang penting dalam mendukung pemanfaatan bahan alam lokal sebagai alternatif kandidat fitofarmaka untuk membantu mengatasi meningkatnya kasus resistensi antimikroba (*Antimicrobial Resistance/AMR*), sekaligus menjadi dasar bagi penelitian lanjutan menuju pengembangan produk antibakteri berbasis tanaman obat yang lebih efektif, aman, dan terstandarisasi.

KESIMPULAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol jahe merah (*Zingiber officinale* var. *rubrum*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri Gram-negatif *Escherichia coli* dan Gram-positif *Staphylococcus aureus*. Aktivitas antibakteri meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak, yang ditunjukkan oleh bertambahnya diameter zona hambat pada seluruh perlakuan. Konsentrasi 100% menghasilkan aktivitas penghambatan tertinggi, yaitu sebesar $16,57 \pm 0,42$ mm terhadap *E. coli* dan $19,13 \pm 0,35$ mm terhadap *S. aureus*, sedangkan kontrol positif kloramfenikol tetap memberikan daya hambat yang lebih besar. Hasil analisis statistik menggunakan One-Way ANOVA menunjukkan bahwa variasi konsentrasi ekstrak berpengaruh signifikan terhadap diameter zona hambat pada kedua bakteri uji ($p < 0,001$), dan uji lanjut Tukey HSD mengonfirmasi bahwa setiap peningkatan konsentrasi memberikan perbedaan yang nyata. Temuan tersebut membuktikan bahwa aktivitas antibakteri ekstrak etanol jahe merah bersifat dose-dependent, sehingga peningkatan konsentrasi ekstrak berkontribusi terhadap meningkatnya efektivitas penghambatan pertumbuhan bakteri.

Perbedaan respons antara kedua bakteri uji menunjukkan bahwa *Staphylococcus aureus* lebih sensitif dibandingkan *Escherichia coli*, yang berkaitan dengan perbedaan struktur dinding sel bakteri Gram-positif dan Gram-negatif. Aktivitas antibakteri ekstrak jahe merah diduga berasal dari keberadaan senyawa bioaktif utama, terutama gingerol dan shogaol, yang mampu mengganggu integritas membran sel, meningkatkan permeabilitas membran, menyebabkan kebocoran komponen intraseluler, serta menghambat fungsi protein esensial pada sel bakteri. Dugaan mekanisme tersebut diperkuat oleh hasil analisis *molecular docking*, yang menunjukkan bahwa seluruh senyawa aktif memiliki afinitas pengikatan terhadap enzim DNA gyrase, dengan 10-gingerol memberikan nilai *binding affinity* paling rendah ($-8,0$ kkal/mol), sehingga diprediksi membentuk kompleks ligan–protein yang paling stabil. Kesesuaian antara hasil pengujian *in vitro* dan pendekatan *in silico* memberikan dukungan mekanistik bahwa senyawa aktif jahe merah berpotensi menghambat pertumbuhan bakteri melalui lebih dari satu target biologis.

Penelitian ini berhasil mengintegrasikan pendekatan eksperimental *in vitro* dan analisis komputasi *in silico* untuk menjelaskan potensi antibakteri ekstrak etanol jahe merah. Pendekatan tersebut memberikan bukti bahwa jahe merah merupakan sumber senyawa bioaktif alami yang berpotensi dikembangkan sebagai kandidat agen antibakteri berbasis bahan alam dalam mendukung upaya penanggulangan resistensi antimikroba. Meskipun demikian, penelitian ini masih memiliki keterbatasan karena identifikasi senyawa aktif belum dikonfirmasi menggunakan analisis fitokimia instrumental seperti GC–MS atau LC–MS/MS, serta belum dilakukan pengujian Minimum Inhibitory Concentration (MIC), Minimum Bactericidal Concentration (MBC), maupun uji toksisitas. Oleh karena itu, penelitian lanjutan diperlukan untuk mengidentifikasi komponen bioaktif dominan, mengonfirmasi mekanisme kerja melalui pengujian biologis yang lebih spesifik, serta mengevaluasi keamanan dan efektivitas ekstrak sehingga dapat mendukung pengembangan fitofarmaka antibakteri yang lebih aplikatif.

DAFTAR PUSTAKA

- Antimicrobial Resistance Collaborators. (2022). *Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: A systematic analysis*. *The Lancet*, 399(10325), 629–655. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)02724-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02724-0)
- Assegaf, S., Kawilarang, A. P., & Handajani, R. (2020). Antibacterial activity of red ginger extract against clinical bacteria. *Biomolecular and Health Science Journal*, 3(1), 19–23. <https://doi.org/10.20473/bhsj.v3i1.19130>
- Bush, K., & Bradford, P. A. (2020). Epidemiology of β -lactamase-producing pathogens. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 10(4), Article a034249. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a034249>
- Darby, E. M., Trampari, E., Siasat, P., Gaya, M. S., Alav, I., Webber, M. A., & Blair, J. M. A. (2023). Molecular mechanisms of antibiotic resistance revisited. *Nature Reviews Microbiology*, 21(5), 280–295. <https://doi.org/10.1038/s41579-022-00820-y>
- Elbestawy, M. K., El-Sherbiny, G. M., Moghannem, S. A., & Farghal, E. E. (2023). Antibacterial, antibiofilm, and anti-inflammatory activities of ginger extract against *Helicobacter pylori*. *Microbiology Research*, 14(3), 1124–1138.
- Fitriani, N., Lestari, D., & Pratiwi, A. (2023). Aktivitas antibakteri ekstrak fenolik jahe merah terhadap bakteri Gram-negatif multiresisten. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 20(1), 34–42.
- GBD 2021 Antimicrobial Resistance Collaborators. (2024). *Global burden of bacterial antimicrobial resistance 1990–2021: A systematic analysis with forecasts to 2050*. *The Lancet*.
- Mao, Q.-Q., Xu, X.-Y., Cao, S.-Y., Gan, R.-Y., Corke, H., Beta, T., & Li, H.-B. (2019). Bioactive compounds and bioactivities of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Foods*, 8(6), Article 185. <https://doi.org/10.3390/foods8060185>
- Pramiastuti, O., & Joharoh, J. (2020). Antibacterial activity of red ginger combined extract against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Medical Laboratory Analysis and Sciences Journal*, 2(1), 45–52. <https://doi.org/10.35584/melysa.v2i1.45>
- Rahman, M. A., Utami, S. R., & Wahyudi, I. (2022). Denaturasi protein membran bakteri oleh senyawa metabolit sekunder Zingiberaceae: Studi *in vitro*. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 25(3), 102–110.
- Santi, R. N., Kristanti, A., & Handayani, T. (2021). Efektivitas ekstrak *Zingiber officinale* var. *rubrum* terhadap integritas dinding sel *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Biologi Kompartemen*, 19(2), 77–84.

- Sari, D. P., et al. (2023). Natural products as alternative strategies to combat antimicrobial resistance. *Frontiers in Microbiology*, 14, Article 1102145. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1102145>
- Shaukat, A., et al. (2023). Mitigating antimicrobial resistance through plant-derived bioactive compounds: A review. *Phytomedicine*, 112, Article 154701. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2023.154701>
- Suhatri, S., Marlina, M., & Fauzana, A. (2022). Karakteristik difusi senyawa fenolik ekstrak jahe berdasarkan variasi gradien konsentrasi. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 9(1), 15–22.
- Wang, W., Li, J., & Zhang, H. (2020). Antibacterial mechanism of ginger essential oil against pathogenic bacteria. *Industrial Crops and Products*, 143, Article 111882. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111882>