

## Bioactive Compounds and Antibacterial Capacity from a Combination of *Zingiber officinale*, *Cymbopogon citratus*, and *Phyllanthus reticulatus*

Elizabeth B. E. Kristiani\*, and Sri Kasmiyati

Program Studi Magister Biologi, Universitas Kristen Satya Wacana, Salatiga, Jawa Tengah, Indonesia

### Abstract

The content of various compounds in plants can be synergistic or antagonistic in providing antibacterial effects. This study evaluated the antibacterial activity of *Zingiber officinale*, *Cymbopogon citratus*, and *Phyllanthus reticulatus* (ZCP) against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, and the pattern of phenolic and flavonoid compounds associated with this activity. Extracts were prepared by maceration using 96% ethanol and composed using a Design of Experiment (DoE) approach. Antibacterial activity was assessed using the Kirby-Bauer method, while phenolic and flavonoid compound levels were measured using High Performance Liquid Chromatography (HPLC). All ZCP compositions exhibited moderate antibacterial activity based on inhibition zone diameter. Several compositions, including single extracts of *Zingiber officinale*, *Cymbopogon citratus*, and *Phyllanthus reticulatus*, as well as ZCP 1:1:0 and ZCP 4:1:1, showed antibacterial activity against *E. coli* statistically comparable to tetracycline, whereas against *S. aureus*, all compositions exhibited lower activity. Higher activity was associated with a specific pattern of, particularly phenolic flavonoid compounds, gallic acid, rutin, catechin, and naringenin. Further studies are needed to optimize the formulation and further explore the interaction of bioactive compounds to develop more effective phytopharmaceuticals.

**Keywords:** antibacterial, *Cymbopogon citratus*, flavonoid, phenolic, *Phyllanthus reticulatus*, *Zingiber officinale*.

### Identifikasi Senyawa Bioaktif dan Kapasitas Antibakteri Kombinasi *Zingiber officinale*, *Cymbopogon citratus*, dan *Phyllanthus reticulatus*

#### Abstrak

Kandungan berbagai senyawa dalam tumbuhan dapat bersifat sinergis atau antagonis dalam memberikan efek antibakteri. Studi ini mengevaluasi aktivitas antibakteri *Zingiber officinale*, *Cymbopogon citratus*, dan *Phyllanthus reticulatus* (ZCP) terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, serta pola senyawa fenolik dan flavonoid yang terkait dengan aktivitas tersebut. Ekstrak disiapkan melalui maserasi menggunakan etanol 96% dan disusun menggunakan pendekatan *Design of Experiment*. Aktivitas antibakteri diukur menggunakan metode Kirby-Bauer, sementara kadar senyawa fenolik dan flavonoid diukur menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). Semua komposisi ZCP menunjukkan aktivitas antibakteri sedang berdasarkan diameter zona penghambatan. Beberapa komposisi, termasuk ekstrak tunggal *Zingiber officinale*, *Cymbopogon citratus*, dan *Phyllanthus reticulatus*, serta ZCP 1:1:0 dan ZCP 4:1:1, menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* yang secara statistik sebanding dengan tetracycline, sedangkan terhadap *S. aureus*, semua komposisi menunjukkan aktivitas yang lebih rendah. Aktivitas yang lebih tinggi terkait dengan pola spesifik senyawa fenolik flavonoid asam galat, rutin, katekin, dan naringenin. Studi lebih lanjut diperlukan untuk mengoptimalkan formulasi dan mengeksplorasi lebih lanjut interaksi senyawa bioaktif guna mengembangkan fitofarmaka yang lebih efektif.

**Kata Kunci:** Antibakteri, *Cymbopogon citratus*, fenolik, flavonoid, *Phyllanthus reticulatus*, *Zingiber officinale*.

#### Article History:

Submitted 14 March 2025  
Revised 03 February 2026  
Accepted 06 February 2026  
Published 30 June 2026

\*Corresponding author:  
[betty.elok@uksw.edu](mailto:betty.elok@uksw.edu)

#### Citation:

Kristiani EBE, Kasmiyati S. Bioactive Compounds and Antibacterial Capacity from a Combination of *Zingiber officinale*, *Cymbopogon citratus*, and *Phyllanthus reticulatus*. Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology. 2026 : 13 (2), 165-172.

## 1. Pendahuluan

Tanaman herbal telah lama digunakan dalam budaya berbeda dalam pengobatan tradisional untuk mengobati berbagai jenis penyakit, termasuk infeksi bakteri. Agen antibakteri potensial, penelitian dan investigasi tanaman herbal sudah menjadi perhatian yang sangat penting, terutama ketika resistensi bakteri terhadap antibiotik sedang meningkat. Tanaman jahe (*Zingiber officinale*), serai (*Cymbopogon citratus*), dan mangsian (*Phyllanthus reticulatus*) memiliki potensi sebagai agen antibakteri alami. Berbagai studi tersebut menunjukkan bahwa penggunaan tunggal ekstrak atau minyak asiri memiliki aktivitas antibakteri dan antioksidan dari *Z. officinale*,<sup>1,2,3</sup> *C. citratus*,<sup>4,5,6</sup> *P. reticulatus*.<sup>7,8</sup> Meskipun menunjukkan aktivitas biologis yang menjanjikan, penggunaan ekstrak tunggal seringkali memiliki keterbatasan seperti spektrum aktivitas sempit atau efektivitas yang bergantung pada konsentrasi senyawa aktif tertentu.

Oleh karena itu, pendekatan kombinasi tanaman herbal mulai banyak dikaji untuk meningkatkan efektivitas biologis melalui potensi efek sinergis antar senyawa bioaktif. Beberapa penelitian melaporkan bahwa kombinasi ekstrak tanaman, termasuk kombinasi yang melibatkan *Z. officinale*, menunjukkan peningkatan aktivitas antioksidan, antibakteri, maupun antivirus dibandingkan ekstrak tunggal, seperti kombinasi ekstrak *Z. officinale* dengan bawang putih (*Allium sativum*),<sup>9</sup> kombinasi ekstrak *Z. officinale*, kunyit (*Curcuma longa*), dan lengkuas (*Alpinia galangal*),<sup>10</sup> kombinasi minyak esensial *Z. officinale* dan serai,<sup>11,12</sup> kombinasi *C. citratus*, daun sirih (*Piper betle*), bunga melati (*Jasminum officinale*), dan pepaya (*Carica papaya* L).<sup>13</sup> Namun demikian, kajian yang mengaitkan pola senyawa bioaktif dengan aktivitas antibakteri pada komposisi kombinasi tertentu masih terbatas, sehingga perlu diteliti lebih lanjut. Pendekatan kombinasi ekstrak herbal kemungkinan dapat meningkatkan efektivitas aktivitas antibakteri, atau sebaliknya. Keberadaan berbagai senyawa aktif dalam tanaman herbal dapat menghasilkan efek antibakteri yang bersifat sinergis atau antagonis.

Senyawa aktif tanaman herbal, khususnya metabolit sekunder, dipercaya memiliki peran dalam menghambat pertumbuhan bakteri melalui berbagai mekanisme.<sup>14</sup> Flavonoid dan flavonoid adalah senyawa metabolit sekunder yang sering dilaporkan memiliki potensi agen antibakteri fitofarmaka. Oleh karena itu, fokus analisis pada penelitian ini adalah beberapa flavonoid dan senyawa fenolik yang sering dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri; flavonoid meliputi rutin,<sup>15</sup> kuersetin, mirisetin, dan kaempferol,<sup>16</sup> dan naringenin,<sup>17</sup> sedangkan fenolik meliputi asam galat,<sup>18</sup> EGCG,<sup>19</sup> katekin dan kafein.<sup>20</sup>

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak *Z. officinale*, *C. citratus*, dan *P. reticulatus* terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Kedua bakteri tersebut dipilih karena memiliki peran utama sebagai patogen dan menunjukkan peningkatan resistensi terhadap antibiotik secara signifikan. Selain itu, penelitian ini juga menganalisis pola senyawa flavonoid dan fenolik untuk memahami keterkaitan antara komposisi senyawa bioaktif dengan aktivitas antibakteri, sebagai dasar pengembangan komposisi fitofarmaka yang lebih efektif dan rasional.

Kombinasi ketiga tanaman tersebut menjadi kebaruan dari penelitian ini, dengan rasional ilmiah bahwa masing-masing tanaman memiliki profil senyawa bioaktif dan mekanisme antibakteri yang berbeda namun saling melengkapi. Herba *Z. officinale* dan *C. citratus* dilaporkan kaya akan senyawa fenolik dan flavonoid yang berperan dalam gangguan terhadap membran sel bakteri,<sup>21,22</sup> sedangkan *P. reticulatus* dilaporkan mengandung senyawa polifenol yang meningkatkan efek antibakteri melalui mekanisme pembentukan biofilm dan stres oksidatif pada bakteri.<sup>23,24</sup> Dengan demikian, penggabungan ketiga tanaman tersebut dihipotesiskan dapat menghasilkan efek sinergis dalam meningkatkan kapasitas antibakteri dibandingkan penggunaan ekstrak tunggal.

## 2. Bahan dan Metode

Penelitian bersifat eksperimental laboratorik dengan pendekatan analisis kuantitatif. Komposisi ekstrak disusun menggunakan Design of Experiment (DOE). Parameter uji pada setiap komposisi yaitu aktivitas antibakteri dan kadar senyawa bioaktif.

### 2.1. Alat

Perlengkapan yang digunakan meliputi *High Performance Liquid Chromatography* (Knauer Germany Seri Smartline), berbagai jenis perlengkapan gelas (Pyrex Iwaki-Indonesia), *paper disc* (HiMedia-Indonesia), timbangan digital (Ohaus-Jerman), *Laminar Air Flow* (ESCO Life Science-Singapore), inkubator (WTB Binder-Jerman), mikropipet (finnpipette Thermoscientific-Finlandia).

### 2.2. Bahan

Bakteri uji digunakan *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) dan *Escherichia coli* (INACC-B5) dari Laboratorium Mikro-biologi Fakultas Biologi Universitas Kristen Satya Wacana, Salatiga. Senyawa bioaktif diukur kadarnya meliputi senyawa flavonoid yaitu asam galat (Sigma-Aldrich 27645-250g-R; HPLC Grade  $\geq 99\%$ ), *epigallocatechin-3-gallate* (EGCG) (Sigma-Aldrich E4143-50MG;  $\geq 95\%$ ), (+)-catechin

hydrate (Sigma-Aldrich C1251-5g  $\geq 98\%$ , dan kafein (Sigma-Aldrich 205548-500GM; HPLC Grade  $\geq 99\%$ ) dan senyawa fenolik yaitu kaempferol (Sigma-Aldrich 60010-25MG; HPLC Grade  $\geq 97.0\%$ ), rutin hidrat (Sigma-Aldrich R5143-50G; HPLC Grade  $\geq 94\%$ ), myrcetin (Sigma-Aldrich 70050-50MG; HPLC Grade  $\geq 96\%$ ), quercetin hydrate (Sigma-Aldrich 337951-25G;  $\geq 95\%$ ), dan ( $\pm$ )-Naringenin (Sigma-Aldrich N5893-1G;  $\geq 95\%$ ), tetrasiklin (HiMedia-Indonesia).

### 2.3. Prosedur

#### 2.3.1. Preparasi sampel

Rimpang *Z. officinale*, daun *C. citratus*, dan daun *P. reticulatus* dicuci dan dikeringkan, kemudian dihaluskan menjadi serbuk simplisia. Serbuk diekstrak menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% pada suhu ruang selama 72 jam. Filtrat hasil maserasi disaring dan diuapkan dengan rotary evaporator hingga didapatkan ekstrak kental.<sup>25</sup> Selanjutnya masing-masing ekstrak dikombinasikan menggunakan pendekatan DoE (Tabel 1).

#### 2.3.2. Uji aktivitas antibakteri

Pengujian kemampuan komposisi ekstrak dalam menghambat pertumbuhan bakteri menggunakan metode Kirby-Bauer.<sup>21</sup> Kultur *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) dan *Escherichia coli* (INACC-B5) diremajakan pada media agar, kemudian disuspensikan dalam larutan MaCl fisiologis steril (0,85%). Kekeruhan suspensi bakteri disesuaikan dengan standart 0,5 McFarland ( $\pm 1,5 \times 10^8$  CFU.mL).

Selanjutnya, suspensi bakteri tersebut diinokulasikan pada permukaan media Mueller-Hinton Agar (MHA) secara merata menggunakan cotton swab steril.

Sebanyak 20  $\mu$ L sampel dengan konsentrasi 100  $\mu$ g/mL ditetesi ke *paper disc*, kemudian diletakkan pada MHA media yang sudah diinokulasi dengan bakteri. Tetrasiklin (30  $\mu$ g/*paper disc*) digunakan sebagai kontrol positif, sedangkan kontrol negatif menggunakan akuades steril. Selanjutnya cawan diinkubasi pada 37°C selama 24 jam. Setelah masa inkubasi, diameter daya hambat (DDH) diukur menggunakan jangka sorong, termasuk diameter cakram. Setiap perlakuan dilakukan dalam tiga ulangan.

#### 2.3.3. Pengukuran kadar senyawa bioaktif

Kadar senyawa bioaktif dalam komposisi ekstrak diukur menggunakan KCKT dengan senyawa standar murni senyawa flavonoid dan fenolik.<sup>27</sup> Pemisahan dilakukan menggunakan kolom Vortex, Eurospher 100-5 C18; 150 $\times$ 4,6 mm dengan fase gerak menggunakan campuran buffer fosfat 0,01 M pH 7 dan metanol (55:45 v/v) pada kecepatan alir 1,0 ml/menit dan tekanan 7,2 MPa. Volume injeksi sampel adalah 20  $\mu$ L. Deteksi dilakukan menggunakan detektor sinar ultraviolet pada panjang gelombang 370 nm.

Validitas sistem KCKT dievaluasi melalui uji kesesuaian sistem (UKS) sebelum analisis sampel. Parameter UKS yang diamati meliputi *retention time* (Rt) dan konsistensi luas area puncak sebagai *Relative standard deviation* (RSD, %), menggunakan larutan standar masing-masing senyawa. Sistem KCKT dinyatakan

**Tabel 1.** Komposisi ekstrak *Z. officinale*, *C. citratus*, dan *P. reticulatus* (ZCP) menggunakan DOE

No.	Kode	Komposisi (%)		
		Z.o	C.c	P.r
1	ZCP 1-0-0 (Z tunggal)	100	0	0
2	ZCP 1-1-4	16,7	16,7	66,7
3	ZCP 1-4-1	16,7	66,7	16,7
4	ZCP 1-0-1	50	0	50
5	ZCP 0-0-1 (P tunggal)	0	0	100
6	ZCP 0-1-0 (C tunggal)	0	100	0
7	ZCP 1-1-0	50	50	0
8	ZCP 4-1-1	80	20	1
9	ZCP 1-0-0 (Z tunggal)	100	0	0
10	ZCP 1-1-0	50	50	0
11	ZCP 0-1-0 (C tunggal)	0	100	0
12	ZCP 0-0-1 (P tunggal)	0	0	100
13	ZCP 0-1-1	0	50	50
14	ZCP 1-1-1	33,3	33,3	33,3

Z.o: *Z. officinale*; C.c: *C. citratus*; P.r: *P. reticulatus*

memenuhi kriteria keberterimaan jika nilai RSD luas puncak  $\leq 2\%$ . Kromatogram representatif dari standar dan sampel disajikan sebagai Gambar (Suplemen S1-S2).

Identifikasi senyawa bioaktif dilakukan dengan membandingkan Rt puncak kromatogram sampel terhadap senyawa standar. Senyawa flavonoid yang diukur meliputi rutin, myrcetin, kuersetin, naringenin, dan kaempferol, sedangkan senyawa fenolik meliputi asam galat, EGCG, katekin, dan kafein.

### 2.3.4. Analisis Data

Data aktivitas antibakteri yang direpresentasikan dalam nilai diameter daya hambat (DDH) dianalisis berdasarkan secara statistik menggunakan SPSS (IBM SPSS Statistic version 25). Analisis ANOVA satu arah untuk mengetahui adanya pengaruh komposisi terhadap nilai DDH, dilanjutkan uji Tukey untuk menentukan beda signifikan antar nilai DDH.

## 3. Hasil

Aktivitas antibakteri komposisi ekstrak Zingiber officinale, Cymbopogon citratus, dan Phyllanthus reticulatus (ZCP) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dievaluasi menggunakan metode difusi cakram (Kirby-Bauer). Tetrasiklin digunakan sebagai kontrol positif pembanding untuk mengevaluasi relatif komposisi ekstrak dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua komposisi ekstrak (ZCP) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap kedua bakteri uji.

Pada uji terhadap bakteri *E. coli*, secara umum nilai DDH pada kisaran 6.0 – 9.3 mm terhadap bakteri uji *E. coli* dan 6,3 – 8,0 terhadap *S. aureus* (Gambar 1 dan Tabel 2), yang menunjukkan bahwa kekuatan antibakteri semua komposisi dalam kategori sedang.<sup>28</sup> Beberapa komposisi ekstrak menunjukkan aktivitas

antibakteri tidak berbeda nyata secara statistik dengan tetrasiklin ( $p > 0,05$ ). Komposisi tersebut meliputi ekstrak tunggal *Z. officinale*, *C. citratus*, dan *P. reticulatus*, serta kombinasi ZCP 1-1-0, dan ZCP 4-1-1, dengan beberapa kode perlakuan tercantum berulang dalam Tabel 1. Komposisi lain menunjukkan aktivitas antibakteri lebih rendah dari kemampuan antibiotika standar tetrasiklin.

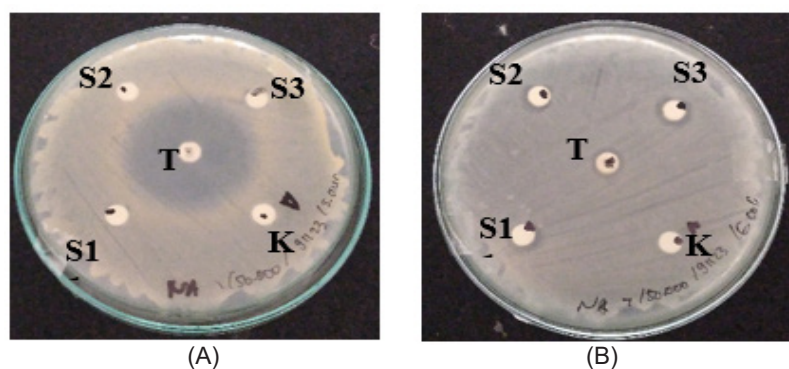
Sebaliknya, pada uji terhadap *S. aureus*, seluruh komposisi ekstrak nilai DDH nyata lebih rendah secara statistik dibandingkan tetrasiklin ( $p < 0,05$ ). Meskipun demikian, variasi nilai DDH antar komposisi tetap teramati, dengan kombinasi seperti ZCP 4-1-1 dan ZCP 0-1-1 menunjukkan zona hambat relatif lebih besar dibandingkan komposisi lain (Tabel 2). Profil kadar senyawa fenolik yang dideteksi dalam setiap komposisi ekstrak meliputi asam galat, katekin, kafein, dan EGCG menunjukkan kadar yang bervariasi antar komposisi (Gambar 2).

Komposisi ZCP 1:0:0 dan ZCP 0:0:1 menunjukkan dominansi asam galat dibandingkan senyawa fenolik lainnya, sedangkan pada ZCP 1:1:0 seluruh senyawa fenolik terdeteksi dengan proporsi yang lebih berimbang.

Kadar senyawa flavonoid dalam komposisi ekstrak ditampilkan pada Gambar 3. Senyawa flavonoid yang diidentifikasi meliputi rutin, mirsetin, kuersetin, naringenin, dan kaempferol, dengan pola distribusi berbeda antar komposisi. Beberapa komposisi dengan aktivitas lebih tinggi terhadap *E. coli* menunjukkan kadar rutin dan/atau mirsetin yang relatif lebih tinggi, sedangkan komposisi lain menunjukkan keberadaan naringenin dan flavonoid lain dalam proporsi yang bervariasi.

## 4. Pembahasan

Metode Kirby-Bauer dapat digunakan untuk mengukur kemampuan senyawa bioaktif dalam menghambat pertumbuhan bakteri melalui pembentukan zona



**Gambar 1.** Hasil uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi agar. A. Uji terhadap *Escherichia coli*. B. Uji terhadap *Staphylococcus aureus*. T: Tetrasiklin, S1, S2, S3: Sampel U1, U1, U3; K: Kontrol negatif.

**Tabel 2.** Diameter daya hambat (DDH) komposisi ekstrak *Z. officinale*, *C. citratus*, dan *P. reticulatus* (ZCP) terhadap pertumbuhan bakteri *Eschericia coli*. dan *Staphylococcus aureus*

No.	Kode	Diameter daya hambat (mm) terhadap bakteri	
		<i>Eschericia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
1	ZCP 1-0-0 (Z tunggal)	9,0 ± 0,0 <sup>c</sup>	6,5 ± 0,0 <sup>ab</sup>
2	ZCP 1-1-4	6,5 ± 0,5 <sup>a</sup>	6,7 ± 0,3 <sup>ab</sup>
3	ZCP 1-4-1	6,8 ± 0,3 <sup>ab</sup>	6,7 ± 0,3 <sup>ab</sup>
4	ZCP 1-0-1	6,7 ± 0,6 <sup>ab</sup>	6,8 ± 0,3 <sup>ab</sup>
5	ZCP 0-0-1 (P tunggal)	9,3 ± 0,6 <sup>c</sup>	6,7 ± 0,7 <sup>abc</sup>
6	ZCP 0-1-0 (C tunggal)	8,0 ± 0,0 <sup>bc</sup>	6,5 ± 0,0 <sup>ab</sup>
7	ZCP 1-1-0	8,3 ± 0,6 <sup>c</sup>	6,5 ± 0,5 <sup>a</sup>
8	ZCP 4-1-1	8,0 ± 1,0 <sup>bc</sup>	8,0 ± 0,0 <sup>c</sup>
9	ZCP 1-0-0 (Z tunggal)	9,0 ± 0,0 <sup>c</sup>	7,3 ± 0,6 <sup>ab</sup>
10	ZCP 1-1-0	8,7 ± 0,6 <sup>c</sup>	6,3 ± 0,3 <sup>ab</sup>
11	ZCP 0-1-0 (C tunggal)	6,7 ± 0,3 <sup>ab</sup>	6,7 ± 0,3 <sup>ab</sup>
12	ZCP 0-0-1 (P tunggal)	8,3 ± 0,6 <sup>c</sup>	7,0 ± 0,0 <sup>abc</sup>
13	ZCP 0-1-1	6,7 ± 0,6 <sup>ab</sup>	7,5 ± 0,9 <sup>bc</sup>
14	ZCP 1-1-1	6,0 ± 0,0 <sup>a</sup>	7,0 ± 0,0 <sup>abc</sup>
15	Tetrasiklin	9,0 ± 0,0 <sup>c</sup>	35,0 ± 0,0 <sup>d</sup>

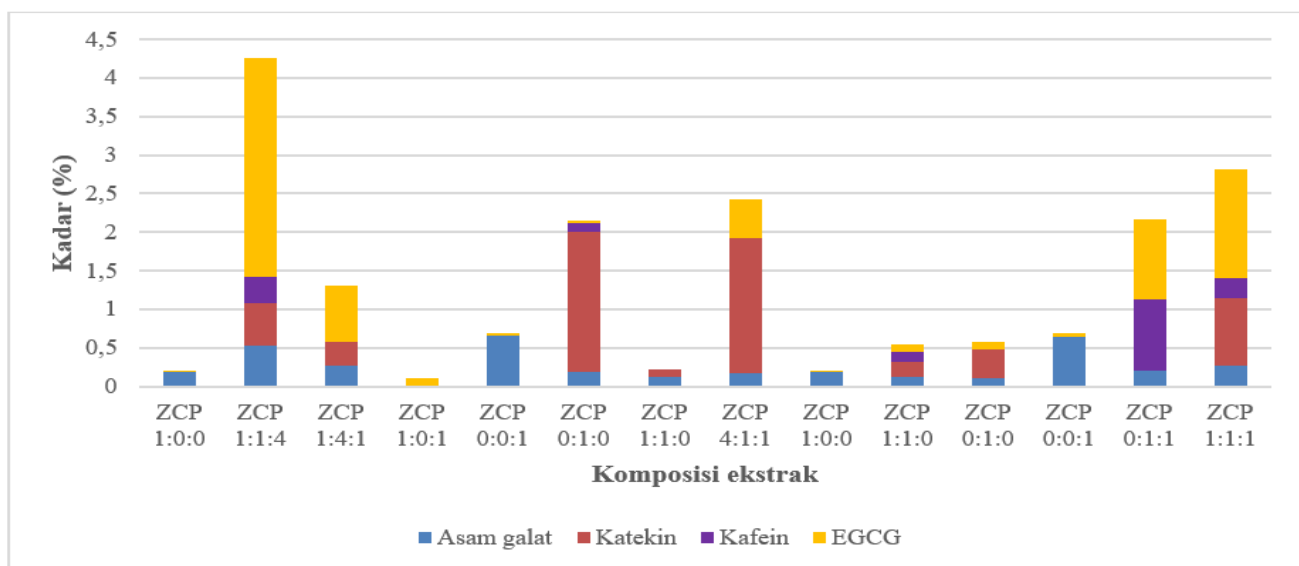
ZCP x-x-x-merupakan kode untuk komposisi *Z. officinale*, *C. citratus*, dan *P. reticulatus* dengan angka x-x-x merupakan rasio dari ketiga jenis tanaman. Perbedaan huruf (*superscript*) di belakang angka dalam kolom yang sama menunjukkan beda nyata secara statistik (uji Tukey dengan taraf kepercayaan 5% dengan n=3)

hambatan di sekitar cakram uji. Besarnya diameter daya hambat memperlihatkan tingkat aktivitas antibakterinya; secara umum ini dikategorikan sebagai lemah (<5 mm), sedang (5-10 mm), dan kuat (>10 mm).<sup>28</sup> Berdasarkan kategori tersebut, seluruh komposisi ekstrak ZCP menunjukkan aktivitas antibakteri dalam kategori sedang terhadap bakteri Gram negatif *E. coli*, dengan nilai DDH berkisar antara 6,0 - 9,3 mm.

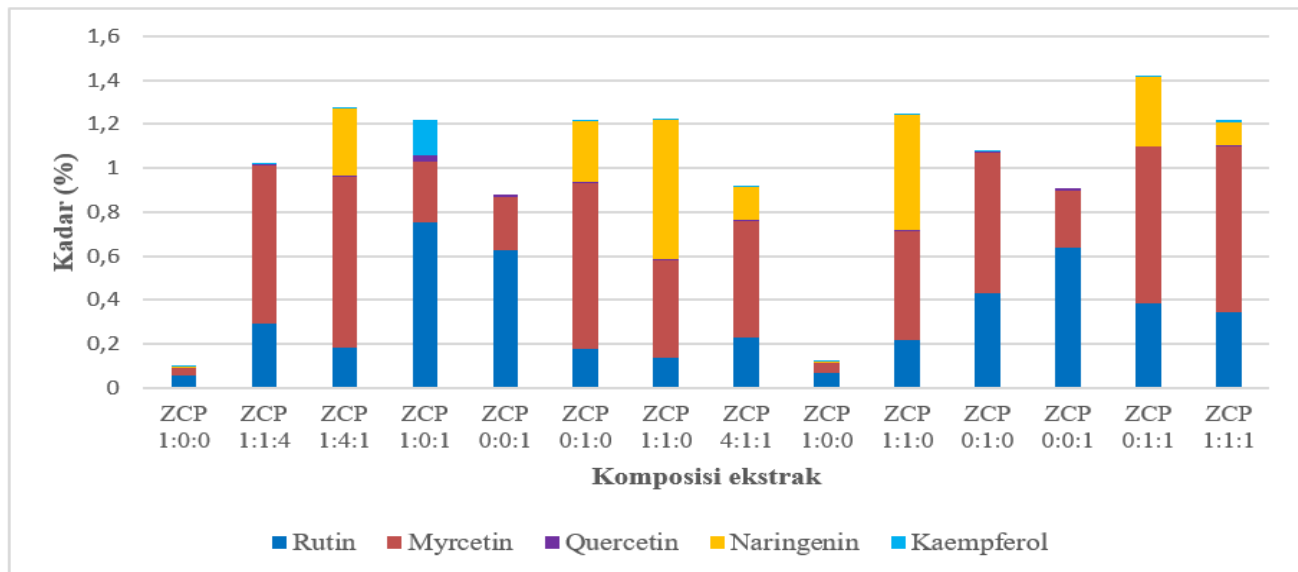
Beberapa komposisi yaitu ekstrak tunggal *Z. officinale*, *C. citratus*, serta kombinasi ZCP 1-1-0 dan ZCP

4-1-1 menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* setara secara statistik dengan tetrasiklin. Temuan ini mengindikasikan bahwa pada komposisi tertentu, ekstrak herbal mampu memberikan daya penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri sebanding dengan standar, meskipun masih tergolong dalam kategori aktivitas sedang.

Sebaliknya, terhadap bakteri Gram positif *S. aureus*, seluruh komposisi ekstrak menunjukkan aktivitas antibakteri yang lebih rendah dibandingkan tetrasiklin. Nilai DDH kisaran 6,3-8,0 pada dasarnya masih



**Gambar 2.** Kadar senyawa fenolik asam galat, katekin, kafein, dan EGCG dalam komposisi ekstrak ZCP



Gambar 3. Kadar senyawa flavonoid rutin, myricetin, kuersetin, naringenin, dan kaempferol dalam komposisi ekstrak ZCP.

tergolong dalam kategori sedang namun secara statistik berbeda nyata dengan DDH kontrol positif tetrasiklin. Namun demikian, perbedaan antar komposisi tetap terlihat, yaitu komposisi ZCP 4-1-1 dengan ZCP 0-1-1 menunjukkan DDH relatif lebih besar dibandingkan komposisi lainnya. Dengan kata lain, meskipun aktivitas terhadap *S. aureus* lebih rendah, variasi komposisi tetap mempengaruhi respon antibakteri. Informasi ini relevan untuk memahami perbedaan sensitivitas bakteri Gram positif terhadap senyawa bioaktif.

Perbedaan respon *E. coli* dengan *S. aureus* dapat dijelaskan berdasarkan perbedaan struktur dinding sel. Bakteri Gram negatif seperti *E. coli* memiliki lapisan peptidoglikan lebih tipis sehingga lebih rentan terhadap senyawa fenolik dan flavonoid yang bekerja melalui kerusakan membran dan gangguan permeabilitas sel. Sebaliknya *S. aureus* memiliki dinding sel lebih khas Gram positif yang dapat menghambat penetrasi senyawa bioaktif, sehingga menurunkan efektivitas antibakteri.

Analisis KCKT menunjukkan bahwa komposisi dengan aktivitas antibakteri lebih tinggi terhadap *E. coli* umumnya ditandai oleh dominasi atau keseimbangan tertentu senyawa fenolik dan flavonoid, khususnya asam galat, katekin, EGCG, rutin, dan naringenin. Asam galat diketahui menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara merusak membran sel dan metabolisme bakteri sehingga pertumbuhan bakteri dan pembentukan biofilm bakteri terhambat.<sup>29</sup> Keberadaan senyawa fenolik lain tersebut dalam jumlah setara, tampaknya saling bersinergis dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli*. Studi sebelumnya menunjukkan bahwa senyawa seperti kuersetin dan

EGCG dapat mengganggu integritas dinding sel bakteri Gram negatif.<sup>28</sup> Flavonoid menghambat pertumbuhan bakteri melalui mekanisme multi target antara lain mengganggu membran sel bakteri, menghambat sintesis DNA, mengganggu metabolisme bakteri, mengubah pembentukan biofilm, dan menurunkan faktor virulensi, stres oksidatif, mekanisme non-oksidatif, dan pengkelatan ion logam.<sup>30,31,32,33,34</sup>

Dalam penelitian ini, keberadaan naringenin pada komposisi tertentu, terutama pada *C. citratus* yang diduga berperan meningkatkan aktivitas antibakteri ketika dikombinasikan dengan flavonoid lain seperti rutin dan/atau mirsetin. Rutin menghambat pertumbuhan bakteri melalui mekanisme mengganggu pengkelatan ion logam, mengganggu membran sel, dan mengganggu metabolisme sel.<sup>36,37,38</sup> Meskipun naringenin secara tunggal dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri yang terbatas pada beberapa bakteri patogen,<sup>39,40</sup> keberadaannya dalam suatu matriks polih herbal berpotensi memberikan efek pendukung, misalnya dengan meningkatkan permeabilitas membran atau memodulasi stres oksidatif, sehingga memperkuat aktivitas senyawa lain secara tidak langsung.<sup>41</sup> hal ini menjelaskan mengapa pada komposisi tertentu aktivitas bakteri meningkat meskipun naringenin bukan senyawa dominan. Sebaliknya, penurunan aktivitas antibakteri beberapa kombinasi menunjukkan adanya kemungkinan berkaitan dengan interaksi kompleks antar komponen yang mempengaruhi ketersediaan, stabilitas, dan kerja masing-masing senyawa dalam sistem biologis.

Fenomena ini umum dilaporkan pada formulasi polih herbal dan menegaskan pentingnya optimasi komposisi untuk memperoleh efek biologis maksimal.

Temuan aktivitas antibakteri dalam penelitian ini juga dapat dikaitkan dengan hasil uji antioksidan pada studi sebelumnya terhadap kombinasi ZCP menggunakan DPPH.<sup>25</sup> Pada penelitian tersebut, komposisi dengan kandungan fenolik tinggi menunjukkan kapasitas antioksidan kuat (nilai IC<sub>50</sub> rendah). Senyawa fenolik dan flavonoid diketahui memiliki peran ganda sebagai antioksidan dan antibakteri, oleh adanya kemampuan radikal bebas dan memicu stress oksidatif pada bakteri yang berkontribusi terhadap kerusakan sel bakteri. Dengan demikian, kapasitas antioksidan yang tinggi memiliki potensi berkorelasi dengan peningkatan aktivitas antibakteri, terutama terhadap bakteri Gram negatif seperti *E. coli*. Intergrasi hasil ini memperkuat hipotesis bahwa senyawa fenolik berperan sebagai penghubung utama antara aktivitas antioksidan dengan aktivitas antibakteri dalam komposisi ZCP.

Secara keseluruhan, pembahasan ini menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri kombinasi ACP tidak hanya ditentukan oleh kadar senyawa individu, tetapi juga oleh pola komposisi dan interaksi antar senyawa bioaktif yang dapat bersifat sinergis maupun antagonis. Pendekatan pola senyawa bioaktif ini memberikan pemahaman yang lebih komprehensif untuk pengembangan formulasi fitofarmaka berbasis kombinasi tanaman herbal

## 5. Simpulan

Ekstrak tunggal *Zingiber officinale*, *Cymbopogon citratus*, *Phyllanthus reticulatus*, dan komposisi ZCP 1:1:0 dan ZCP 4:1:1 mempunyai aktivitas antibakteri sedang terhadap *E. coli* setara dengan tetrasiklin. Aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* pada semua komposisi ekstrak lebih rendah dari kemampuan tetrasiklin. Aktivitas antibakteri yang lebih tinggi terkait dengan pola komposisi fenolik dan flavonoid spesifik daripada konsentrasi senyawa individu saja. Studi lanjutan diperlukan untuk mengoptimalkan komposisi dan mengeksplorasi lebih jauh interaksi senyawa bioaktif untuk pengembangan fitofarmaka yang lebih efektif

## Ucapan Terimakasih

Peneliti mengucapkan terimakasih atas dukungan dana dari Universitas Kristen Satya Wacana melalui Progran Hibah Internal Penelitian Fundamental (SK 172/ SPK-PF/RIK/10/2024) sehingga penelitian ini dapat terlaksana dengan lancar.

## Konflik Kepentingan

Para penulis menyatakan bahwa tidak ada konflik kepentingan yang terkait dengan penelitian ini. Penelitian ini dilakukan secara independen tanpa

adanya hubungan komersial atau keuangan yang dapat dianggap sebagai potensi konflik kepentingan.

## Daftar Pustaka

1. Wang X, Shen Y, Thakur K, Han J, Zhang JG, Hu F, et al. Antibacterial activity and mechanism of ginger essential oil against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Molecules*. 2020;25(17).
2. Njobdi S, Gambo M, Ishaku GA. Antibacterial Activity of *Zingiber officinale* on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *J Adv Biol Biotechnol*. 2018;19(1):1–8.
3. Beristain-Bauza SDC, Hernández-Carranza P, Cid-Pérez TS, Ávila-Sosa R, Ruiz-López II, Ochoa-Velasco CE. Antimicrobial Activity of Ginger (*Zingiber Officinale*) and Its Application in Food Products. *Food Rev Int*. 2019;35(5):407–26.
4. Tazi A, Moujahed SE, Jaouad N, Saghrouchni H, Al-Ashkar I, Liu L, et al. Exploring The Bioactive Potential of Moroccan Lemon Grass (*Cymbopogon citratus* L.): Investigations on Molecular Weight Distribution and Antioxidant and Antimicrobial Potentials. *Molecules*. 2024;29:3982.
5. Ilango P, Suresh V, Vummidi AV, Ravel V, Chandran V, Mahalingam A, et al. Evaluation of Antibacterial Activity of Lemongrass Oil Against Oral Clinical Isolates - an In Vitro Study. *Pharmacogn J*. 2019;11(5):1023–8.
6. Kumar A. Phytochemical Screening and Antibacterial Activity of Lemongrass (*Cymbopogon citratus*) Leaves Essential Oil. *J Pharmacogn Phytochem*. 2021;10(2):445–9.
7. Haque T, Muhsin MDA, Akhter T, Haq ME, Begum R, Chowdhury SFUA. Antimicrobial and Analgesic Activity of Leaf Extracts of *Phyllanthus reticulatus* Poir. (Family-Euphorbiaceae). *Jahangirnagar Univ J Biol Sci*. 2016;5(1):81–5.
8. Hiremani VD, Goudar N, Khanapure S, Gasti T, Eelager MP, Narasagoudr SS, et al. Physicochemical and Antimicrobial Properties of *Phyllanthus reticulatus* Fruit Extract Doped Chitosan/Poly (vinyl alcohol) Blend Films for Food Packaging Applications. *J Food Meas Charact*. 2023;17(2):1548–61.
9. Rajendrasozhan S. Antioxidant, Antibacterial and Antiviral Effect of The Combination of Ginger and Garlic Extracts. *Bioinformation*. 2024;20(1): 11–7.
10. Azhari M, Febriansyah Sengaji R. Antimicrobial Activity of Turmeric, Ginger, and Galangal Rhizome Ethanol Extracts in Combination Using the Checkerboard Method. *J Borneo*. 2023;3(3):139–48.
11. Yakubu DD, Katsa MM, Chrysantus LA. Synergistic Effect of Essential Oils of *Cymbopogon citratus* (Lemon Grass) and *Zingiber officinale* (Ginger) on *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi* and *Escherichia coli*. *Afropolitan Journals*. 2023;13(1):36–41.
12. Dzigbor A, Negro D, Tettey CO, Nsaful F, Addo EO, Ofosu-Pomaa J. The Effects of Varying Ingredients Combination and Boiling Time on Total Phenolic Content, Antioxidant Activity, and Antimicrobial Properties of Lemongrass-Ginger Tea. *Heliyon*. 2024;10(22):e40172.
13. Rahayu SA, Zahra F, Akmal T, Farmasi A, Siliwangi B, Rancabolang J, et al. Antibacterial Activity Test of Herbal and Non Herbal Bar Soap Against The Growth of

- Staphylococcus aureus ATCC29213. *Indones J Pharm Sci Technol.* 2023;5(2):146–51.
14. Šovljanski, O., Cvetanović, A., & Tomić, A. Antibacterial and Antifungal Potential of Plant Secondary Metabolites. Springer International Publishing. 2023: 1-43.
  15. Semwal R, Joshi SK, Semwal RB, Semwal DK. Health Benefits and Limitations of Rutin - A Natural Flavonoid With High Nutraceutical Value. *Phytochem Lett.* 2021;46(10): 119–28.
  16. Ningsih IS, Chatri M, Advinda L, Violita. Flavonoid Active Compounds Found in Plants. *Cerambi Biol.* 2023;8(2):126–32.
  17. Motallebi M, Bhia M, Rajani HF, Bhia I, Tabarraei H, Mohammadkhani N, et al. Naringenin: A Potential Flavonoid Phytochemical for Cancer Therapy. *Life Sci.* 2022;305:120752.
  18. Nayeem N, SMB A. Gallic Acid: A promising lead molecule for drug development. *J Appl Pharm.* 2016;08(02):8–11.
  19. Ahammed GJ, Wu Y, Wang Y, Guo T, Shamsy R, Li X. Epigallocatechin-3-Gallate (EGCG): A unique secondary metabolite with diverse roles in plant-environment interaction. *Environ Exp Bot.* 2023;209(3):105299.
  20. Paiva L, Lima E, Motta M, Marcone M, Baptista J. Variability of antioxidant properties, catechins, caffeine, L-theanine and other amino acids in different plant parts of Azorean *Camellia sinensis*. *Curr Res Food Sci.* 2020;3:227–34.
  21. Juariah, S. Antibacterial Activity and Inhibition Mechanism of Red Ginger (*Zingiber officinale* var. *rubrum*) Ethanol Extract Against Pathogenic Bacteria. *Journal of Advanced Research in Applied Sciences and Engineering Technology.* 2023;30(1):145157
  22. Subramaniam S, Yew XY, Sivasamugham LA. Antibacterial activity of *Cymbopogon citratus* against clinically important bacteria, *South African Journal of Chemical Engineering.* 2020;34:26–30.
  23. Haque MM, Mosharaf MK, Khatun M, Haque MA, Biswas MS, Islam MS, Islam MM, Shozib HB, Miah MMU, Molla AH and Siddiquee MA. Biofilm Producing Rhizobacteria With Multiple Plant Growth-Promoting Traits Promote Growth of Tomato Under Water-Deficit Stress. *Frontiera in Microbiol.* 2020;11:542053.
  24. Dan L, Shenrui P, Jianxia S. Natural phenolic acids as promising antimicrobial candidates in food industry: A review. *International Journal of Food Microbiology.* 2025;443:111413.
  25. Kristiani EBE, Kasmiyati S, Martono Y. Combination of Polyherbal *Phyllanthus reticulatus* with *Zingiber officinale* and *Cymbopogon citratus* to Optimize the Antioxidant Capacity. *Pharmaciana.* 2024;14(1):88–99.
  26. Addo-Mensah A, Garcia G, Maldonado IA, Anaya E, Cadena G, Lee LG. Evaluation of Antibacterial Activity of *Artemisia vulgaris* Extracts. *Res J Med Plant.* 2015;9(5):234–40.
  27. Kristiani EBE, Kasmiyati S. Kadar Flavonoid, Senyawa Biomarker Antikanker pada Tumbuhan Famili Asteraceae dari Daerah Kopeng Kabupaten Semarang Indonesia. *Maj Ilm Biol Biosf A Sci J.* 2020;37(1):22–6.
  28. Rahmiyani I, Yuliana A, Anggitha M, Nurviana V. Aktivitas Antibakteri Daun Jambu Biji dan Pisang Klutuk Secara In Vitro Sebagai Antidiare. *Indones J Pharm Sci Technol.* 2021;1(1):41–9.
  29. Keyvani-Ghamsari S, Rahimi M, Khorsandi K. An update on the potential mechanism of gallic acid as an antibacterial and anticancer agent. *Food Sci Nutr.* 2023;11(10):5856–72.
  30. Rahman MM, Rahaman MS, Islam MR, Hossain ME, Mithi FM, Ahmed M, et al. Multifunctional therapeutic potential of phytocomplexes and natural extracts for antimicrobial properties. *Antibiotics.* 2021;10(9).
  31. Lin Z, Lin Y, Zhang Z, Shen J, Yang C, Jiang M, et al. Systematic Analysis of Bacteriostatic Mechanism of Flavonoids Using Transcriptome and Its Therapeutic Effect on Vaginitis. *Aging (Albany NY).* 2020;12(7):6292–305.
  32. Salatin S, Bazmani A, Shahi S, Naghili B, Memar MY, Dizaj SM. Antimicrobial benefits of flavonoids and their nanoformulations. *Curr Pharm Des.* 2022;28(17):1419–1432.
  33. Rodríguez B, Pacheco L, Bernal I, Piña M. Mechanisms of Action of Flavonoids: Antioxidant, Antibacterial and Antifungal Properties. *Ciencia, Ambient y Clima.* 2023;6(2):33–66.
  34. Zhang C, Xie Y, Qiu W, Mei J, Xie J. Antibacterial and Antibiofilm Efficacy and Mechanism of Ginger (*Zingiber officinale*) Essential Oil Against *Shewanella putrefaciens*. *Plants.* 2023;12(1720):1–17.
  35. Xun H, Wang J, Wang J, Tang F. Integrated Metabolomic and Transcriptomic Analysis Reveals the Underlying Antibacterial Mechanisms of the Phytonutrient Kuersetin-Induced Fatty Acids Alteration in *Staphylococcus aureus* ATCC 27217. *Molecules.* 2024;29(10):2266.
  36. Carbone C, Mashhoud J, Tahan Z. Kuersetin and Rutin as a Dual Approach to Antibacterial and Anti-Biofilm Activity via Iron Chelation Mechanism. *Discov Food.* 2024;4(1).
  37. Yi L, Bai Y, Chen X, Wang W, Zhang C, Shang Z, et al. Synergistic Effects and Mechanisms of Action of Rutin with Conventional Antibiotics Against *Escherichia coli*. *International J Mol Sci.* 2024;25(24):13684.
  38. Bello-Onaghise G, Xiaoxu X, Yonghui Z, Qianwei Q, Wenqiang C, Yang T, et al. Rutin, a Natural Inhibitor of IGPD Protein, Inhibits the Biofilm Formation in *Staphylococcus xylosus* ATCC700404. *bioRxiv.* 2019.
  39. Céliz G, Daz M, Audisio MC. Antibacterial activity of naringin derivatives against pathogenic strains. *J Appl Microbiol.* 2011;111(3):731–8.
  40. Ng'uni T, Mothlalamme T, Daniels R, Klaasen J, Fielding BC. Additive antibacterial activity of naringenin and antibiotic combinations against multidrug resistant *Staphylococcus aureus*. *African J Microbiol Res.* 2015;9(23):1513–8.
  41. Agus S, Achmadi SS, Mubarik NR. Antibacterial activity of naringenin-rich fraction of pigeon pea leaves toward *Salmonella thypi*. *Asian Pac J Trop Biomed.* 2017;7(8):725–8.