

Potensi Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C.) dalam menghambat pertumbuhan dan pembentukan biofilm *Escherichia coli* ATCC 25922

The Potential of Ethanol Extract of Kaffir Lime (*Citrus hystrix* D.C.) Leaves in Inhibiting the Growth and Biofilm Formation of *Escherichia coli* ATCC 25922

Lisa Soegianto^{a)*}, Dwi Afifah^{a)}

^{a)}Fakultas Farmasi, Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya, Indonesia

Article info:

Received Date : 06/07/2025

Revised Date : 26/10/2025

Accepted Date : 30/10/2025

Keywords:

Kaffir Lime Leaves,
Minimum Inhibitory Concentration,
Minimum Bactericidal Concentration,
Antibiofilm,
Escherichia coli ATCC 25922,
Phytochemical Screening.

Corresponding Authors*:

Lisa Soegianto

Fakultas Farmasi Universitas Katolik
Widya Mandala Surabaya, Jl. Raya
Kalisari Selatan No. 1, Surabaya
e-mail: lisa-s@ukwms.ac.id

Abstrak

E. coli adalah bakteri Gram negatif yang menjadi faktor utama dalam patogenesis infeksi saluran kemih, infeksi luka diabetes dan infeksi luka pasca operasi karena menghasilkan biofilm. Biofilm merupakan matriks ekstraseluler yang dibentuk bakteri dan tersusun dari polisakarida, protein dan DNA ekstraseluler. Pembentukan matriks ini merupakan salah satu penyebab resistensi bakteri pada pengobatan antibiotik karena dapat menghalangi difusi antibiotik atau antimikroba. Namun pembentukan biofilm dapat dikendalikan dengan senyawa antibakteri dibawah kadar hambat minimum. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui potensi ekstrak etanol daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C.) sebagai alternatif kombinasi pengobatan dalam menghambat pertumbuhan dan menghambat pembentukan awal struktur biofilm *E.coli* ATCC 25922. Daun jeruk purut diekstraksi melalui metode maserasi dengan etanol 96%(1:5). Metode *microtiter plate assay* digunakan dalam uji aktivitas antibakteri dengan konsentrasi 3,125 – 50 mg/ml sedangkan uji aktivitas penghambatan biofilm dengan konsentrasi 2,12– 34 mg/ml dan pewarna biofilm kristal violet 1%. Skrining fitokimia ekstrak etanol daun jeruk purut mengonfirmasi adanya senyawa alkaloid, flavonoid, steroid, tanin, dan saponin. Pengujian menunjukkan hasil Kadar Hambat Minimum 41,28 mg/ml dan Kadar Bunuh Minimum 50,25 mg/ml sedangkan konsentrasi ekstrak 34 mg/ml menunjukkan penghambatan pembentukan biofilm tertinggi yaitu 92,98% dengan MBIC₅₀ antibiofilm 8,64 mg/ml.

Abstract

E. coli is a Gram-negative bacterium that is a major factor in the pathogenesis of urinary tract infections, diabetic wound infections, and post-operative wound infections because it produces biofilms. Biofilms are extracellular matrices formed by bacteria and are composed of polysaccharides, proteins, and extracellular DNA. The formation of this matrix is one of the causes of bacterial resistance to antibiotic treatment because it can hinder the diffusion of antibiotics or antimicrobials. However, biofilm formation can be controlled with antibacterial compounds below the minimum inhibitory concentration. The purpose of this research is determine the potential of ethanol extract of kaffir lime leaves (*Citrus hystrix* D.C.) as an alternative combination treatment in inhibiting the growth and formation of *E. coli* ATCC 25922 biofilms. Extraction kaffir lime leaves using the method maceration with 96% ethanol (1:5). The microtiter plate assay method was used in the antibacterial activity test with a concentration of 3.125–50 mg/ml while the biofilm formation inhibition activity test with a concentration of 2.12–34 mg/ml and 1% crystal violet biofilm dye. The phytochemical screening results of the ethanol extract of kaffir lime leaves confirmed the presence of alkaloids, flavonoids, steroids, tannins, and saponins. The assay showed a Minimum Inhibitory Concentration of 41.28 mg/ml and a Minimum

Bactericidal Concentration of 50.25 mg/ml, while the extract concentration of 34 mg/ml showed the highest inhibition of biofilm formation, namely 92.98% with an antibiofilm IC50 of 8.64 mg/ml.

PENDAHULUAN

Perubahan respon bakteri terhadap antibiotik/antimikroba menyebabkan timbulnya masalah resistensi bakteri terhadap antibiotik atau antimikroba, hal ini menjadi salah satu masalah yang penting dalam pengobatan infeksi. Salah satu penyebab perubahan respon bakteri adalah kemampuan bakteri menghasilkan biofilm untuk melindungi diri terhadap lingkungan termasuk sistem imun dan antibiotik/antimikroba. Biofilm yang dihasilkan merupakan matriks ekstraseluler berupa EPS (*Extracellular Polymeric Substances*) terdiri atas polisakarida, protein dan DNA ekstraseluler (Purbowati, 2016).

Tidak semua bakteri dapat membentuk biofilm, bakteri *Escherichia coli* yang termasuk kelompok Gram negatif mempunyai kemampuan membentuk biofilm. *E. coli* adalah penyebab umum infeksi pada saluran kemih. Pembentukan biofilm oleh *E.coli* di dinding uretra dan kateter diduga menjadi penyebab kekambuhan infeksi saluran kemih. Sedangkan pada kasus pediatri, formasi biofilm *E.coli* di mukosa usus menjadi penyebab infeksi gastrointestinal dan menimbulkan diare berkepanjangan (Jap & Widodo, 2021). Pada fase pertumbuhan sel, biofilm yang dibentuk oleh bakteri ini sebagai mekanisme pertahanan diri dari kondisi lingkungan yang merugikan seperti kurangnya nutrisi dan adanya agen antimikroba (Zhang *et al.*, 2022).

Hasil penelitian terdahulu tentang antibiofilm menyimpulkan bahwa kandungan metabolit sekunder yaitu flavonoid, terpenoid, fenol dan asam organik memiliki potensi sebagai antibiofilm dengan menghambat sistem *quorum sensing* (Zhang *et al.*, 2022). Hasil penelitian dari Hernando-Amado *et al.*, (2020) menyimpulkan bahwa senyawa naringenin menghambat produksi faktor virulensi *Pseudomonas aeruginosa* sehingga dapat menghambat respon *quorum sensing* dan berakibat pada penurunan pembentukan biofilm. Naringenin adalah senyawa flavonoid pada tanaman jeruk purut. Berdasarkan informasi tersebut maka dilakukan penelitian tentang pemanfaatan tanaman sebagai agen antibiofilm dan antibakteri untuk mengatasi kasus resistensi bakteri agar tidak semakin meningkat.

Tanaman jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) dapat dimanfaatkan hampir seluruh bagiannya, terutama daunnya. Penelitian yang ada menunjukkan bahwa ekstrak daun jeruk purut efektif menekan perkembangan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* ketika diuji menggunakan metode difusi dengan hasil kadar hambat minimum (KHM) pada kedua bakteri uji adalah 5% (Astriani, Chusniasih & Marcellia, 2021). Pada penelitian ini dilakukan pengujian aktivitas antibakteri melalui metode dilusi dan

antibiofilm ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) dengan teknik *microtiter plate assay* terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922.

METODE

Determinasi Tanaman Jeruk Purut

Tanaman jeruk purut dideterminasi oleh UPT Laboratorium Materia Medica di Kota Batu, Malang.

Pembuatan Simplisia Daun Jeruk Purut

Daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) setelah disortasi dibersihkan dengan air mengalir dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Simplisia disortasi kering dan diperkecil ukuran partikelnya. Kemudian diseragamkan ukuran partikelnya agar halus dan homogen dengan ayakan no. 80.

Pembuatan Ekstrak Daun Jeruk Purut

Serbuk simplisia daun jeruk purut yang sudah halus di maserasi dengan etanol 96% (1:5). Hasil maserasi kemudian dihilangkan etanol 96% dengan *rotary evaporator* suhu 60°C, 80 rpm.

Standarisasi Ekstrak Daun Jeruk Purut

Dilakukan standarisasi dengan parameter spesifik meliputi identifikasi secara menyeluruh mencakup deskripsi tata nama, senyawa identitasnya dan organoleptis meliputi aroma, tekstur, dan warna ekstrak. Serta standarisasi dengan parameter non-spesifik yang berfokus pada pengukuran susut pengeringan dan kadar abu total.

Pengujian susut pengeringan pada ekstrak yang ditimbang secara seksama 1-2 g dalam krus porselen bertutup yang telah dikonstankan beratnya pada suhu 105°C. Ekstrak dikeringkan dalam oven suhu 105°C sampai diperoleh bobot konstan. Pendinginan dalam eksikator tertutup sampai mencapai suhu ruang dan dilakukan penimbangan (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2017).

Pengujian kadar abu total dilakukan dengan menimbang ekstrak 2 - 3 g dalam krus silikat yang telah disetarakan, kemudian memijarkan pada suhu 500-600°C selama 3 jam secara perlahan-lahan sampai tidak ada sisa arang dan ditimbang sampai diperoleh bobot konstan. Perhitungan kadar abu didasarkan pada bahan yang sudah dikeringkan (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2017).

Skrining Fitokimia

a. Uji Alkaloid

Ekstrak dimasukkan dalam campuran HCl 2N dan akuades, lalu dipanaskan sebentar diatas penangas air (2 menit) dan disaring, filtrat hasil pemanasan dipakai untuk uji alkaloid dengan menambahkan masing-masing 5 tetes reagen Mayer, Dragendorff, dan Wagner. Hasil

menunjukkan positif alkaloid ditandai adanya endapan putih dengan reagen Mayer, endapan jingga dengan reagen Dragendorff dan endapan coklat dengan reagen Wagner (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1989).

b. Uji Flavonoid

Ekstrak dilarutkan dalam akuades ditambah 3 tetes HCl pekat dan serbuk Mg secukupnya kemudian diaduk. Positif alkaloid terlihat ada warna merah atau jingga pada plat tetes (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1989).

c. Uji Steroid dan terpenoid

Ekstrak dilarutkan dengan campuran asetat anhidrat dan asam sulfat pekat. Jika hasil positif steroid akan terlihat adanya warna hijau sedangkan jika hasil positif terpenoid akan terlihat adanya warna merah keunguan (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1989).

d. Tanin

Beberapa tetes larutan FeCl_3 10% ditambahkan dalam larutan ekstrak. Hasil positif terlihat ada warna biru tua atau hitam kehijauan yang terbentuk (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1989).

e. Saponin

Ekstrak dilarutkan dalam akuades dan di kocok selama 10 detik kemudian didiamkan 10 menit. Pada penambahan 1 ml HCl 2 M buih terlihat tetap stabil yang berarti hasil positif saponin (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1989).

Pengamatan Mikroskopis Bakteri Uji

Pewarnaan bakteri metode *Gram Stain* dilakukan pada preparat bakteri, kemudian hasil pewarnaan diamati dengan menggunakan

mikroskop pada perbesaran 10×100 .

Pengamatan Kemampuan Bakteri Uji dalam Pembentukan Biofilm

Dilakukan pengujian dengan metode tabung dengan cara bakteri uji diinokulasi dalam media *Trypticase Soy Broth* (TSB) dan glukosa 1%. Positif biofilm ditandai dengan adanya lapisan film yang terlihat melapisi dinding dan bagian bawah tabung setelah diberi larutan safranin, sedangkan negatif biofilm ditandai dengan adanya lapisan berbentuk cincin tipis pada tabung (Kirmusaoğlu, 2019).

Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode Mikrodilusi

Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan sampel ekstrak konsentrasi tertinggi 50 mg/ml dan diencerkan dengan akuades dengan metode pengenceran berderet sampai pada konsentrasi terendah 3,125 mg/ml. Masing-masing sumuran pada *Microplate U-bottom 96 well* diisi dengan 100 µl sampel uji, 100 µl media MHB dan 10 µl suspensi bakteri uji yang sudah distandarisasi dengan kekeruhan larutan $\frac{1}{2}$ *Mc Farland* I. Sebagai kontrol digunakan kontrol positif pertumbuhan *E. coli* ATCC 25922 (100 µl akuades, 100 µl media MHB dan 10 µl suspensi bakteri), kontrol negatif akuades (100 µl akuades, 100 µl media MHB) dan larutan ekstrak sebagai blanko sampel uji (100 µl akuades, 100 µl media MHB). Pengukuran densitas optik dilakukan pada panjang gelombang 600 nm dengan microplate reader setelah diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C (Utami *et al.*, 2023). Dan dihitung % penghambatan pertumbuhan dengan rumus :

$$\left(1 - \frac{\text{Do Sampel Uji} - \text{Do Blanko Sampel uji}}{\text{Do Kontrol Positif} - \text{Do Kontrol Negatif}}\right) \times 100\%$$

Keterangan :

Do = Densitas Optik

Larutan uji = Larutan ekstrak + media pertumbuhan + suspensi bakteri

Blanko sampel uji = Larutan ekstrak + media pertumbuhan

Kontrol positif = Media pertumbuhan + suspensi bakteri

Kontrol negatif = Media pertumbuhan

Uji Aktivitas Penghambatan Pembentukan Biofilm dengan metode *microtiter plate assay*

Pengujian aktivitas penghambatan pembentukan biofilm menggunakan sampel ekstrak dengan konsentrasi tertinggi 34 mg/ml dan diencerkan dengan akuades dengan metode pengenceran berderet sampai pada konsentrasi terendah 2,12 mg/ml. Masing-masing sumuran *microplate* diisi dengan 100 µl sampel ekstrak, dan 100 µl media TSB dengan glukosa 1% serta 10 µl suspensi bakteri yang setara dengan kekeruhan larutan $\frac{1}{2}$ *Mc Farland* I. Sebagai kontrol digunakan kontrol positif pembentukan biofilm *E. coli* ATCC 25922 (100 µl akuades, 100 µl media TSB dengan glukosa 1%, dan 10 µl suspensi bakteri),

kontrol negatif akuades (100 µl akuades, 100 µl media TSB dengan glukosa 1%) dan larutan ekstrak sebagai blanko sampel uji (100 µl sampel ekstrak, dan 100 µl media TSB dengan glukosa 1%). Setelah diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam, isi sumuran dikeluarkan, dan dibilas 3 kali menggunakan air yang mengalir dan dikeringkan di inkubator selama 15 menit pada suhu 37°C. Setiap sumuran diwarnai dengan 200 µl kristal violet 1% dan didiamkan pada suhu ruang selama 15 menit. *Microplate* dibilas 2 kali dengan air mengalir untuk menghilangkan warna yang tidak terikat kemudian 200 µl larutan tween 80 2% ditambahkan ke setiap sumuran yang berfungsi untuk melarutkan lapisan biofilm. *Microplate* dimasukkan ke dalam *Microplate reader* untuk

mengukur densitas optiknya pada panjang gelombang λ 595 nm. Hasil aktivitas penghambatan biofilm dihitung dengan rumus sama seperti metode mikrodilusi pada uji aktivitas antibakteri.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini diawali dengan proses determinasi untuk memastikan kebenaran spesies tanaman jeruk purut karena hal ini penting untuk mencegah adanya kekeliruan dalam pengumpulan bahan serta menghindari kontaminasi tanaman yang akan diteliti dengan tanaman lain. Proses ekstraksi 200 gram serbuk simplisia daun jeruk purut menghasilkan ekstrak kental sebanyak 22,7 gram. Jumlah ini menunjukkan bahwa nilai rendemen ekstrak sebesar 11,35 %. Uji standarisasi spesifik diperoleh hasil seperti pada tabel 1 dan 2.

Tabel 1. Hasil uji standarisasi spesifik ekstrak daun jeruk purut

Parameter	Hasil Pengamatan
Identitas ekstrak	Nama tanaman : <i>Citrus hystrix</i> D.C
	Nama Indonesia: Jeruk Purut
	Suku : Rutaceae
	Bagian tanaman: Daun
	Nama ekstrak : <i>Citrus hystrix extratctum folium</i>
Organoleptis	Senyawa identitas: Sitronelal
	Bentuk : ekstrak kental
	Warna : hijau gelap Bau : aromatis

Tabel 2. Hasil standarisasi non-spesifik ekstrak daun jeruk purut

Parameter	Standar *	Hasil Uji (%)
Susut pengeringan	$\leq 11\%$	$3,7 \pm 0,15$
Kadar abu total	$\leq 16,6\%$	$3,08 \pm 0,16$

* (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia., 2017)

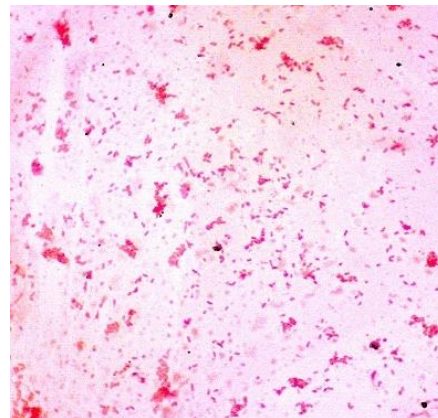
Tabel 3. Hasil skrining fitokimia

Senyawa	Hasil
Alkaloid	Positif
Flavonoid	Positif
Terpenoid	Positif
Steroid	Positif
Tanin	Positif
Saponin	Positif

Analisis skrining fitokimia (Tabel 3) memberikan informasi adanya kandungan senyawa metabolit sekunder pada ekstrak daun jeruk purut adalah alkaloid, flavonoid, steroid, tanin, dan saponin. Kandungan senyawa alkaloid dibuktikan dengan munculnya endapan, dimana reaksi pengendapan yang terjadi karena ion-ion dalam pereaksi Mayer, Dragendroff dan Wagner berikatan dengan pasangan elektron bebas dari

atom nitrogen yang merupakan ciri khas struktur alkaloid (Parbuntari *et al.*, 2018). Uji untuk flavonoid melihat adanya pengaruh dari serbuk Mg dan HCl pekat yang ditambahkan dalam mereduksi inti benzopiron pada struktur flavonoid yang ditandai adanya warna jingga (Karlina & Nasution, 2022). Adanya senyawa steroid/terpenoid dideteksi melalui uji *Liebermann-Burchard*, hasil positif ditunjukkan adanya warna hijau untuk steroid dan merah keunguan untuk terpenoid. Warna ini merupakan hasil reaksi asetilasi gugus OH oleh pereaksi membentuk cincin warna biru atau hijau dan berwarna merah atau ungu (Dwisari, Harlia, & Alimuddin, 2016). Adanya senyawa tanin pada ekstrak ditandai adanya perubahan warna menjadi hitam kehijauan setelah ditambahkan dengan FeCl_3 karena pembentukan kompleks antara gugus fenol dengan Fe yang terdapat pada pereaksi semprot FeCl_3 (Malangngi, Santi & Paendong, 2012). Kandungan saponin dalam ekstrak daun jeruk purut dibuktikan positif dengan terbentuknya buih yang stabil setelah ekstrak dikocok dan ditambahkan HCl 2M, hal ini muncul karena saponin bersifat mudah larut dalam air dan akan menimbulkan buih setelah dilakukan pengocokan (Karlina & Nasution, 2022).

Pengamatan mikroskopis bakteri uji *Escherichia coli* ATCC 25922 setelah pewarnaan Gram (Gambar 1) menunjukkan morfologi sel berbentuk batang pendek dengan susunan sel tunggal dan berwarna merah. Hal ini disebabkan dinding sel bakteri tersusun atas membran sitoplasmik dan membran luar yang mengandung lipopolisakarida (LPS) dan lipoprotein. Selama proses pewarnaan Gram, lapisan lipopolisakarida larut saat di cuci dengan alkohol aseton menyebabkan pori-pori dinding sel membesar dan zat warna pertama akan hilang sehingga mengikat zat warna kedua yang berwarna merah.. Kemampuan *E. coli* dalam membentuk biofilm terdeteksi pada metode tabung dimana setelah diwarnai dengan safranin terdapat lapisan film berwarna merah pada dinding tabung (Gambar 2).



Gambar 1. Hasil pengamatan mikroskopis *E.coli* dengan pewarnaan Gram



Gambar 2. Hasil uji pembentukan biofilm *E. coli* dengan metode tabung

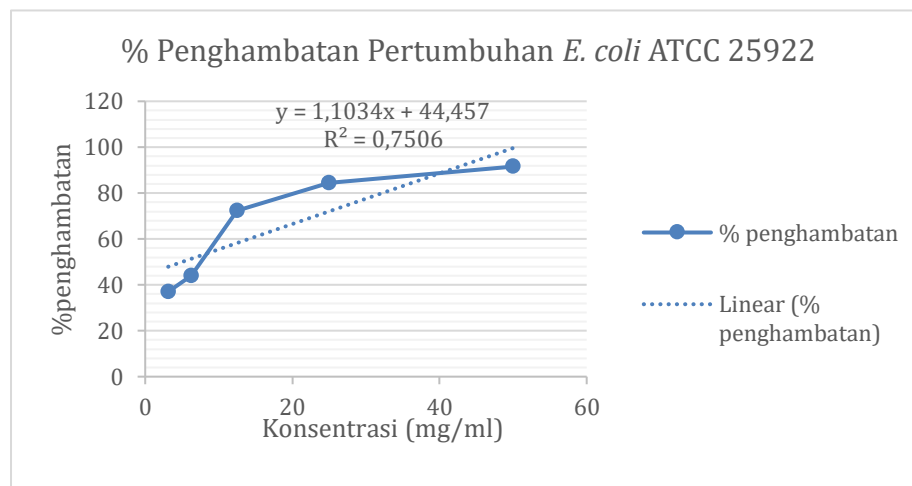
Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Jeruk Purut Terhadap Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dengan Metode Mikrodilusi

Pengujian antibakteri menggunakan metode mikrodilusi menunjukkan adanya penghambatan pertumbuhan oleh ekstrak daun jeruk purut pada seluruh rentang konsentrasi 3,125 hingga 50

mg/ml yaitu 37,01 hingga 91,55%. Berdasarkan analisis menggunakan persamaan linear diperoleh kadar hambat minimum (KHM) pada konsentrasi 41,28 mg/ml dan kadar bunuh minimum (KBM) pada konsentrasi 50,25 mg/ml (Tabel 4, Gambar 3).

Tabel 4. Persentase penghambatan pertumbuhan *E.coli* ATCC 25922 oleh ekstrak daun jeruk purut

Konsentrasi (mg/ml)	% penghambatan pertumbuhan
3,125	37,01
6,25	43,96
12,5	72,26
25	84,40
50	91,55



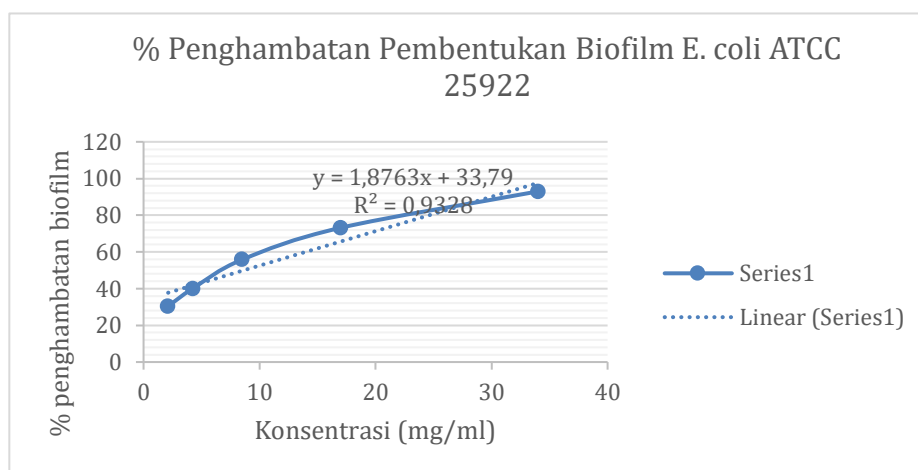
Gambar 3. Grafik hubungan antara konsentrasi ekstrak daun jeruk purut (mg/ml) dengan % penghambatan pertumbuhan *E. coli* ATCC 25922

Hasil Uji Aktivitas Penghambatan Pembentukan Biofilm Ekstrak Daun Jeruk Purut terhadap Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922

Aktivitas antibiofilm ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix D.C*) diuji secara kuantitatif dengan menggunakan metode *microtiter plate assay* dan menunjukkan adanya efek penghambatan terhadap pembentukan biofilm berkisar 30,47 - 92,98% pada rentang konsentrasi 2,12 - 34 mg/ml (Tabel 5, Gambar 4). Dan $MBIC_{50}$ adalah 8,64 mg/ml. Pada pengujian ini media yang digunakan adalah *Tryptic Soy Both* (TSB) yang mengandung glukosa 1%. Tujuan dari penambahan glukosa yaitu sebagai nutrisi bakteri dalam pembentukan biofilm (Kirmusaoglu, 2019).

Tabel 5. Persentase penghambatan biofilm pada *Escherichia coli* ATCC 25922 oleh ekstrak daun jeruk purut

Konsentrasi (mg/ml)	Persen Penghambatan Biofilm (%)
2,12	30,47
4,25	40,09
8,5	55,82
17	73,18
34	92,98



Gambar 4. Grafik hubungan antara konsentrasi ekstrak daun jeruk purut (mg/ml) dengan %penghambatan pembentukan biofilm *E. coli* ATCC 25922

Hasil uji aktivitas antibakteri dan antibiofilm diketahui peningkatan konsentrasi ekstrak daun jeruk purut berbanding lurus dengan peningkatan % penghambatan pertumbuhan *E. coli* ATCC 25922 dan % penghambatan pembentukan biofilm *E. coli* ATCC 25922. Peningkatan konsentrasi senyawa yang mempunyai aktivitas antibakteri dapat meningkatkan fluiditas membran sel bakteri sehingga meningkatkan penetrasi senyawa tersebut ke dalam sel bakteri (Wu *et al.*, 2016) sehingga dapat menyebabkan kematian sel. Senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak daun jeruk purut yaitu flavonoid, alkaloid, tanin, terpenoid dan saponin mempunyai aktivitas antibakteri dengan berbagai mekanisme. Senyawa flavonoid seperti naringenin bekerja merusak membran sel bakteri dan menghambat enzim bakteri, senyawa alkaloid menyebabkan kebocoran dinding sel bakteri dan mempengaruhi DNA/RNA dalam proses sintesis bakteri, senyawa tanin menyebabkan denaturasi protein dinding sel bakteri termasuk enzim bakteri, senyawa terpenoid bersifat lipofilik sehingga dapat memecah fosfolipid yang mengakibatkan sel bakteri kehilangan ion dan molekul penting, senyawa saponin dapat menurunkan tegangan permukaan dan menyebabkan membran sel bakteri lisis (Panda *et al.*, 2025).

Hasil penelitian terdahulu tentang antibiofilm menunjukkan bahwa kandungan metabolit sekunder yaitu flavonoid, fenol, terpenoid, alkaloid dan asam organik memiliki potensi sebagai antibiofilm dengan menghambat *Quorum Sensing* (QS) system (Zhang *et al.*, 2022). Senyawa flavonoid salah satunya naringenin yang berada di ekstrak daun jeruk purut bekerja dengan menghambat produksi salah satu molekul signal

dalam QS system yaitu *N-acyl-homoserine lactone* (AHL), senyawa terpenoid mempengaruhi regulasi molekul signal AHL, senyawa fenol mengurangi ekspresi faktor virulensi yang dikendalikan QS system, senyawa alkaloid mempengaruhi regulasi ekspresi dalam QS system dan asam organik mempengaruhi regulasi ekspresi dalam QS system serta menghambat produksi AHL (Zhang *et al.*, 2022).

Konsentrasi ekstrak daun jeruk purut untuk menghambat produksi biofilm sebanyak 50% (MBIC₅₀) lebih rendah yaitu 8,64 mg/ml dibandingkan KHM (41,28 mg/ml) dan KBM (50,25 mg/ml) karena penghambatan pembentukan biofilm cukup dengan mengganggu proses komunikasi bakteri melalui QS system dengan mempengaruhi molekul signal untuk melakukan adhesi awal bakteri. Penghambatan pembentukan biofilm dengan menghambat QS system dapat mencegah bakteri resistensi terhadap antimikroba (Bouyahya *et al.*, 2022).

KESIMPULAN

Ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C.) terbukti memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dengan KHM 41,28 mg/ml dan KBM 50,25 mg/ml serta aktivitas antibiofilm terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dengan persen penghambatan pembentukan biofilm tertinggi 92,98% pada konsentrasi 34 mg/ dan IC₅₀ penghambatan pembentukan biofilm adalah 8,64 mg/ml. Golongan metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C.) adalah alkaloid, flavonoid, terpenoid, steroid dan tanin dan saponin.

Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.
Jurnal Ilmu Kedokteran dan Kesehatan, 8(3).
<https://doi.org/10.33024/JIKK.V8I3.4350>

DAFTAR PUSTAKA

Astriani, N. K., Chusniasih, D., & Marcellia, S., 2021. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix*)

Bouyahya, A., Chamkhi, I., Balahbib, A., Rebezov, M., Shariati, M. A., Wilairatana, P., *et al.*, 2022. Mechanisms, Anti-Quorum-Sensing Actions, and Clinical Trials of Medicinal Plant Bioactive Compounds against Bacteria: A Comprehensive Review. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 27(5). <https://doi.org/10.3390/MOLECULES27051484>

Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1989, *Materia Medika Indonesia, Jilid V*, Departemen Kesehatan Indonesia, Jakarta.

Dwisari, F., Harlia, & Alimuddin, A.H., 2016, Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Terpenoid Ekstrak Metanol Akar Pohon Kayu Buta-Buta (*Excoecaria agallocha* L.), *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*, 5(3): 25-30. <https://jurnal.untan.ac.id/index.php/jkkmipa/article/view/14909>

Hernando-Amado, S., Alcalde-Rico, M., Gil-Gil, T., Valverde, J. R., & Martínez, J. L., 2020. Naringenin Inhibition of the *Pseudomonas aeruginosa* Quorum Sensing Response Is Based on Its Time-Dependent Competition With N-(3-Oxo-dodecanoyl)-L-homoserine Lactone for LasR Binding. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 7. <https://doi.org/10.3389/FMOB.2020.00025>

Jap, A. L. S., & Widodo, A. D., 2021. Diare Akut yang Disebabkan oleh Infeksi. *Jurnal Kedokteran Meditek*, 27(3), 282–288. <https://doi.org/10.36452/JKDOKTMEDITEK.V27I3.2068>

Karlina, V.R. & Nasution, H.M., 2022, Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Journal of Health and Medical Science*, 1(2): 131-139. <https://pusdikra-publishing.com/index.php/jkes/article/view/649>

Kementerian Kesehatan Republik Indonesia., 2017, *Farmakope Herbal Indonesia, Direktorat Jenderal Kefarmasian dan Alat Kesehatan, Jakarta*

Kirmusaoğlu, S., 2019. The Methods for Detection of Biofilm and Screening Antibiofilm Activity of Agents. *Antimicrobials*,

Antibiotic Resistance, Antibiofilm Strategies and Activity Methods. <https://doi.org/10.5772/INTECHOPEN.84411>

Malangngi, L., Sangi, M., & Paendong, J., 2012. Penentuan Kandungan Tanin dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.). *Jurnal MIPA*, 1(1), 5. <https://doi.org/10.35799/JM.1.1.2012.423>

Panda, S.R., Meher, A., Prusty, G., Behera, S., & Prasad, B.R. 2025., Antibacterial properties and therapeutic potential of few medicinal plants: current insights and challenges. *Discover Plants*, 2(1). <https://doi.org/10.1007/S44372-025-00097-4>

Parbuntari, H., Prestica, Y., Gunawan, R., Nurman, M. N., & Adella, F., 2018. Preliminary Phytochemical Screening (Qualitative Analysis) of Cacao Leaves (*Theobroma cacao* L.). *EKSAKTA: Berkala Ilmiah Bidang MIPA*, 19(2), 40–45. <https://doi.org/10.24036/EKSAKTA/VOL19-ISS2/142>

Purbowati, R., 2016. Hubungan biofilm dengan infeksi: implikasi pada kesehatan masyarakat dan strategi mengontrolnya. *Jurnal Ilmiah Kedokteran Wijaya Kusuma*, 5(1), pp.1-14. <http://dx.doi.org/10.30742/jikw.v5i1.1>

Utami, D. T., Hertiani, T., Pratiwi, S. U. T., Randy, A., Artanti, A. N., Ermawati, D. E., *et al.*, 2023. Antibiofilm Activity of Eugenol against *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans* ATCC 43718 (serotype B). *Egyptian Journal of Chemistry*, 66(4), 205–208. <https://doi.org/10.21608/EJCHEM.2022.143899.6278>

Wu, Y., Bai, J., Zhong, K., Huang, Y., Qi, H., Jiang, Y., & Gao, H., 2016. Antibacterial activity and membrane-disruptive mechanism of 3-p-trans-coumaroyl-2-hydroxyquinic acid, a novel phenolic compound from pine needles of *Cedrus deodara*, against *Staphylococcus aureus*. *Molecules*, 21(8). <https://doi.org/10.3390/MOLECULES21081084>

Zhang, M., Han, W., Gu, J., Qiu, C., Jiang, Q., Dong, J., *et al.*, 2022. Recent advances on the regulation of bacterial biofilm formation by herbal medicines. *Frontiers in Microbiology*, 13. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2022.1039297>