

BUKTI KORESPONDENSI

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

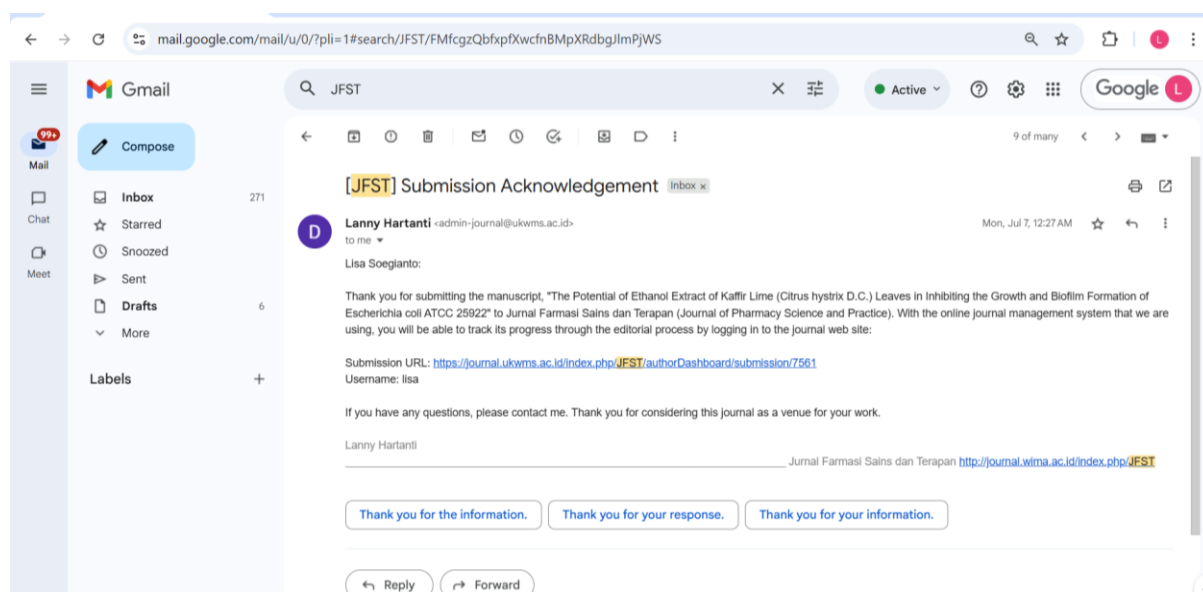
The Potential of Ethanol Extract of Kaffir Lime (*Citrus hystrix* D.C.) Leaves in Inhibiting the Growth and Biofilm Formation of *Escherichia coli* ATCC 25922

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

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

* corresponding author

No	Tahapan	Tanggal
1.	Paper submitted	6 Juli 2025
2.	Desk review	9 Oktober 2025
3.	Review 1	25 Oktober 2025
4.	Revision 1	28 Oktober 2025
5	Editorial decision : Accepted	30 Oktober 2025
6.	Publish	24 November 2025



Journal Farmasi Sains dan Terapan (Journal of Pharmacy Science and Practice)

Submissions

Issues

Announcements

Settings

Journal

Website

Workflow

Distribution

Users & Roles

Statistics

Articles

Editorial Activity

Users

Reports

Tools

7561 / Soegianto / Potential of Ethanol Extract of Kaffir Lime (Citrus hystrix D.C.) Leaves in Inhibiting the Growth and Biofilm Formation

Library

Workflow

Publication

Submission

Review

Copyediting

Production

Submission Files

Q Search

24006

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

July 6, 2025

Article Text

25257

[JFST - 7561] Blind Review

October 20, 2025

Article Text

Download All Files

Pre-Review Discussions

Add discussion

Name	From	Last Reply	Replies	Closed
[JFST - 7561] Initial Screening	dimas 2025-10-09 09:49 AM	lisa 2025-10-13 10:21 AM	1	☐

https://journal.ukwms.ac.id/index.php/JFST/\$\$\$\$call\$\$\$tab/author-dashboar.../author-dashboar-tab/fetch-tab?submissionId=7561&stageId=1

Journal Farmasi Sains dan Terapan (Journal of Pharmacy Science and Practice)

Submissions

Issues

Announcements

Settings

Journal

Website

Workflow

Distribution

Users & Roles

Statistics

Articles

Editorial Activity

Users

Reports

Tools

7561 / Soegianto / Potential of Ethanol Extract of Kaffir Lime (Citrus hystrix D.C.) Leaves in Inhibiting the Growth and Biofilm Formation

Library

Workflow

Publication

Submission

Review

Copyediting

Production

Round 1

Round 1 Status

Submission accepted.

Notifications

[JFST] Editor Decision

2025-10-25 10:33 AM

[JFST] Editor Decision

2025-10-30 02:45 PM

[JFST] Editor Decision

2025-10-30 03:23 PM

https://journal.ukwms.ac.id/index.php/JFST/\$\$\$\$call\$\$\$tab/author-dashboar.../author-dashboar-tab/fetch-tab?submissionId=7561&stageId=3

Journal Farmasi Sains dan Terapan (Journal of Pharmacy Science and Practice)

Submissions

Issues

Announcements

Settings

Journal

Website

Workflow

Distribution

Users & Roles

Statistics

Articles

Editorial Activity

Users

Reports

Tools

7561 / Soegianto / Potential of Ethanol Extract of Kaffir Lime (Citrus hystrix D.C.) Leaves in Inhibiting the Growth and Biofilm Formation

Library

Workflow

Publication

Submission

Review

Copyediting

Production

Reviewer's Attachments

Q Search

25377

[JFST - 7561] Review Comments (1)

October 25, 2025

25310

[JFST - 7561] Review Comments (2)

October 25, 2025

Revisions

Q Search

Upload File

25384

[JFST++7561]+Review+Comments+(1)_revisi.docx

October 26, 2025

Article Text

25509

[JFST - 7561] Revised Manuscript Rev. 1

October 30, 2025

Article Text

Review Discussions

Add discussion

Name	From	Last Reply	Replies	Closed
[JFST - 7561] Request for Manuscript Revision	dimas 2025-10-27 08:18 AM	-	0	☐

- Submissions
- Issues
- Announcements

7561 / Soegianto / Potential of Ethanol Extract of Kaffir Lime (*Citrus hystrix* D.C.) Leaves in Inhibiting the Growth and Biofilm Formation | Library

Library

Settings

- Journal
- Website
- Workflow
- Distribution
- Users & Roles

Statistics

- Articles
- Editorial Activity
- Users
- Reports

Tools

Workflow

Publication

Submission

Review

Copyediting

Production

Copyediting Discussions

[Add discussion](#)

Name	From	Last Reply	Replies	Closed
Copyediting	dimas 2025-10-30 03:13 PM	-	0	☐

Copyedited

Search Upload/Select Files

► 25512 8. [JFST - 7561] Final Manuscript_12(2)78-84

October 30, 2025 Article Text

https://journal.uksu.ac.id/index.php/IJCT/article/view/author_dachbeard/author_dachbeard_tab/fetch_tab?submissionId=7663&etacId=4

- Submissions
- Issues
- Announcements

7561 / Soegianto / Potential of Ethanol Extract of Kaffir Lime (*Citrus hystrix* D.C.) Leaves in Inhibiting the Growth and Biofilm Formation Library

Library

Settings

- Journal
- Website
- Workflow
- Distribution
- Users & Roles

Statistics

- Articles
- Editorial Activity
- Users
- Reports

Tools

Workflow

Publication

Submission

Review

Copyediting

Production

Production Discussions

[Add discussion](#)

Name	From	Last Reply	Replies	Closed
Proofreading	dimas 2025-10-30 03:27 PM	-	0	☐

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

Abstrak: Received Date : 01.10.2022 Revised Date : 01.10.2022 Accepted Date : 01.10.2022	Abstrak: E. coli adalah bakteri Gram negatif yang menjadi faktor utama dalam patogenesa 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 efikasi antibiotik atau antimikroba. Namun pembentukan biofilm dapat diantisipasi dengan senyawa antibakteri di bawah kadar hambatan minimum. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi ekstrak etanol daun jeruk purut (<i>Citrus hystrix</i> D.C.) sebagai alternatif kombinasi pengobatan dalam menghambat pertumbuhan dan menghambat pembentukan biofilm <i>E. coli</i> ATCC 25922. Ekstraksi daun jeruk purut melalui maserasi dengan etanol 98% (v/v). Metode microtiter plate assay digunakan dalam uji aktifitas antibakteri dengan konsentrasi 0,125 – 50 mg/ml dengan uji aktifitas antibakteri dengan konsentrasi 0,125 – 34 mg/ml dan penemuan biofilm kristal violet 1% (H) hasil skrining fitokimia ekstrak etanol daun jeruk purut mengonfirmasi adanya senyawa alkaloid, flavonoid, steroid, tanin, dan saponin. Pengujian menunjukkan hasil kadar minimum 41,28 mg/ml dari kadar Bunuh Minimum 50,25 mg/ml sedangkan konsentrasi ekstrak 34 mg/ml menunjukkan penghambatan pembentukan biofilm terdapat 92,88% dengan uji antibakteri 8,84 mg/ml.
Keywords: <i>Kaffir Lime Leaves, Minimum Inhibitory Concentration, Minimum Bactericidal Concentration, Antibacter, Biofilm, and ATCC 25922, Phytochemical Screening.</i>	
Corresponding Author:	
	Abstract E. coli is a Gram-negative bacterium that is a major factor in the pathogenesis of urinary tract infections, diabetic wound infections, and postoperative wound infections because it produces biofilm. 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 efficacy of antibiotics or antimicrobials. However, biofilm formation can be controlled with antibacterial compounds below the minimum inhibitory concentration. This study aims to determine the potential of ethanol extract of kaffir lime leaves (<i>Citrus hystrix</i> D.C.) as an alternative combination treatment in inhibiting the growth and formation of <i>E. coli</i> ATCC 25922 biofilms. Kaffir lime leaves were extracted through maceration with 98% ethanol (1:5). The microtiter plate assay method was used in the antibacterial activity test with a concentration of 0.125–50 mg/ml while the antibiofilm activity test with a concentration of 0.125–34 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, tanins, 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

Author
Kaffirnya harus diperbaiki agar seloginis dengan metode microtiter

Line Signage:
Uji aktifitas antibakteri diawali menjadi uji aktifitas penghambatan biofilm karena dalam penelitian ini metode pengujian efektif dan suaperti bakteri dibuktikan berdasarkan kemampuan diskusikan (menyebutkan penemuan biofilm dalam proses pembentukan biofilm-MBC) jadi bukan pada fase pertengahan atau fase penutupan. Sedangkan metode lain dilakukan dengan cara suaperti bakteri dibuktikan terlebih dahulu untuk menghambat biofilm kemudian setelah biofilm terbentuk dilakukan dengan ekstrak untuk melihat kemampuan ekstrak dalam menghambat biofilm(MBC)

Author
Biofilm menggunakan nilai MIC

Line Signage:
Di awal menjadi MIC, untuk menghambat pembentukan biofilm sebesar 50%

concentration of 34 mg/ml showed the highest inhibition of biofilm formation, namely 92.88% with an antibiofilm CBO of 8.84 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. Biofilmyang dihasilkan merupakan matriks ekstraseluler berupa EPS (*Extracellular Polymeric Substances*) terdiri atas polisakarida, protein dan DNA ekstraseluler (Purbawati, 2016).

Tidak semua bakteri dapat membentuk biofilm, *Escherichia coli* salah satu bakteri Gram negatif merupakan salah satu bakteri yang mampu membentuk biofilm. *E. coli* merupakan bakteri Gram negatif yang sering menyebabkan infeksi saluran kemih. Pembentukan biofilm oleh *E.coli* di dinding uretra dan kateter diduga menjadi penyebab kelambahan infeksi saluran kemih. Sedangkan pada skala pediatris, formasi biofilm *E.coli* di mikusa usus menjadi penyebab infeksi gastrointestinal dan menimbulkan diare berkepanjangan (Iqbal dan Widodo, 2021). Pada fase pertumbuhan sel, bakteri ini membentuk biofilm untuk bertahan terhadap kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan seperti kekurangan nutrisi/oksidan, dan paparan agen antimikroba (Triana, 2018).

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 (Astriani, Chumaidi, dan Marella, 2021). Pada penelitian ini dilakukan evaluasi aktivitas antibakteri melalui metode difusi 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 Simpulisa Daun Jeruk Purut

Daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C.) setelah dicuci bersih dengan air mengalir dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Simpulisa diortasi kering dan diperleksi ukuran partikelnya. Kemudian diseragamkan ukuran partikelnya agar halus dan homogen dengan ayakan no. 80.

Pembuatan Ekstrak Daun Jeruk Purut

Sekam dan jeruk purut yang sudah bebas di maserasi dengan etanol 98% (v/v). Hasil maserasi kemudian dihilangkan etanol 98% dengan menggunakan rotary evaporator pada suhu 60°C, 80 rpm.

Standarisasi Ekstrak Daun Jerut Purut

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

Pengujian susut pengeringan dilakukan dengan cara ekstrak ditimbang secara seksama 1-2 g dalam krus porcelen bertutup yang telah dikontankan beritanya pada suhu 105°C. Ekstrak dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C hingga bobot konstan. Pendinginan dilakukan dalam eksikator terutup 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 ditara, kemudian menjiratkan pada suhu 500-600°C selama 3 jam secara perlahan-lahan sampai arang habis kemudian ditimbang hingga diperoleh bobot tetap. Kadar abu dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2017).

Skrining Fitokimia

a. Uji Alkaloid

Ekstrak dilarutkan dalam campuran HCl 2N dan akuades, lalu dipanaskan sebentar diatas penangas air

(2 menit) dan disaring, filtrat yang dihasilkan 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 ditandai adanya warna merah atas hingga 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 FeCl₃ 10% ditambahkan dalam larutan ekstrak. Jika hasil positif ditandai terbentuknya warna biru tua atau hitam kehijauan (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1989).

e. Saponin

Ekstrak dilarutkan dalam akuades dan di kocok selama 10 detik kemudian ditambahkan 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 diamati dengan menggunakan mikroskop pada perbesaran 10 x 100.

Pengamatan Kemampuan Bakteri Uji dalam Pembentukan Biofilm

Dilakukan pengujian dengan metode tabung dengan cara bakteri uji diinkubasi 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 (Kirmasuslaga, 2019).

Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode Mikrodifusi

Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan sampel ekstrak dengan 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 setara dengan kekeraban larutan 1x McFarland 1. 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 kontrol ekstrak sebagai blanko sampel uji (100 µl akuades, 100 µl media MHB). Setelah diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam dilakukan pengamatan densitas optik dengan menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang 600 nm. 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 kekeraban larutan 1x McFarland 1. 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, 1 ml sumuran keluaran, dan dihisab 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 dididam 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 [

Author
Referensi ? Terutama pada rumus perhitungan referensi harus jelas, karena ada beberapa macam perhitungan referensi biofilm.

Line Signage:
Sudah diuraikan dalam studi Utami et al., 2023

Author
Bakteri ada fase pertengahan dan penutupan, jika uji baco ter rusak pertengahan sehingga di metode krus jala

Line Signage:
Metode yang dilakukan adalah untuk menguji pertumbuhan biofilm atau menghambat pertumbuhan biofilm atau menghambat metode ekstrak dan suaperti bakteri dibuktikan berdasarkan kemampuan diskusikan (Diskusikan MIC), bukan suaperti bakteri dibuktikan data dan setelah biofilm terbentuk baru diberikan ekstrak dimana fase pertengahan ekstrak diberikan pada biofilm yang terbentuk setelah suaperti diskusikan 24 jam dan fase penutupan - ekstrak diberikan pada biofilm yang terbentuk setelah diskusikan 48 jam. Fase pertengahan dan penutupan diskusikan uji penghambatan biofilm (penelitian asun haydya MIC)

perluhrutan lapisan biofilm. *Microplate* dimasukkan ke dalam *Microplate reader* untuk mengukur densitas optiknya pada panjang gelombang 1 995 nm. Hasil aktivitas penghambatan biofilm dihitung dengan rumus sama seperti uji aktivitas antibakteri dengan metode mikrodifusi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Langkah awal untuk memastikan kebenaran spesies tanaman yang akan diteliti dilakukan determinasi tanaman jeruk purut karena hal ini penting untuk mencegah adanya kesalahan dalam pengumpulan bahan serta menghindari tercampurnya tanaman yang akan diteliti dengan tanaman lain. Proses ekstraksi dari 200 gram serbuk simplisia daun jeruk purut menghasilkan ekstrak kental sebanyak 22,7 gram yang menghasilkan 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
Organoleptis	Bagian tanaman: Daun
	Nama ekstrak : <i>Citrus hystrix extractum folium</i>
	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	≤ 11%	8,7 ± 0,15
Kadar abu total	≤ 16,6%	3,08 ± 0,16

* Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2017

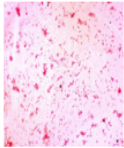
Tabel 3. Hasil skrining fitokimia

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. Keberadaan senyawa alkaloid dibuktikan dengan munculnya endapan, dimana reaksi pengendapan yang terjadi karena ion-on dalam reagen Mayer, Dragendorff dan Wagner berikatan dengan pasangan elektron bebas dari atom nitrogen yang merupakan ciri khas struktur alkaloid (Purbanti, dkk, 2018). Uji untuk flavonoid positif adanya pengaruh penambahan serbuk Mg dan HCl pekat untuk mereaksikan inti benzopiron pada struktur flavonoid sehingga terjadi perubahan warna menjadi jingga (Karlina dan Nasution, 2022). Adanya senyawa steroid/terpenoid dideteksi melalui *Liebermann- Burchard*, hasil positif ditunjukkan adanya warna hijau untuk steroid dan merah keunguan untuk terpenoid. Perubahan warna ini merupakan hasil reaksi senyawa gugus OH oleh pemki membentuk cincin warna biru atau hijau dan berwarna merah atas ungu (Dwiarti, Harlia dan Alimuddin, 2016). Adanya senyawa tanin pada ekstrak ditandai adanya perubahan warna menjadi hitam kehijauan setelah ditambahkan dengan FeCl₃ karena pembentukan kompleks antara gugus fenol dengan Fe yang terikat pada peroksi senyawa FeCl₃ (Malangung, Sugri, dan Pambudi, 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 dan 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 dapat terjadi karena dinding sel bakteri tersusun atas membran sitoplasmik dan membran luar yang mengandung lipopolisakarida (LPS) dan lipoprotein. Selama proses pewarnaan Gram, lapisan lipopolisakarida harti 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

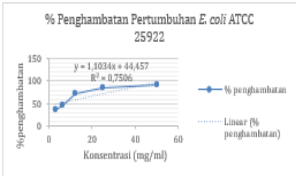


Gambar 2. Hasil uji pembentukan biofilm *E. coli* dengan metode tabung

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 hambatan minimum (KHM) pada konsentrasi 41,28 mg/ml dan kadar buah minimum(KBM) pada konsentrasi 50,25 mg/ml (Tabel 4, Gambar 3).

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



Line Scoring
Keterangan: Garis digunakan konsentrasi tertinggi (50) dalam perhitungan karena pengenceran yang digunakan adalah pengenceran berderet sehingga dalam konsentrasi 50 mg/ml % penghambatan pertumbuhan >100%.

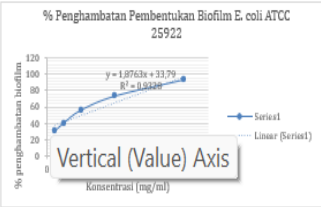
Gambar 3. Grafik hubungan antara konsentrasi ekstrak daun jeruk purut (mg/ml) dengan %penghambatan pertumbuhan *E. coli* ATCC 25922

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 IC_{50} penghambatan pembentukan biofilm adalah 8,64 mg/ml. Pada pengujian ini media yang digunakan adalah *Tryptic Soy Broth* (TSB) yang mengandung glukosa 1%. Tujuan dari penambahan glukosa yaitu sebagai nutrisi bakteri dalam pembentukan biofilm (Kurniasugila, 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 pengujian aktivitas antibakteri dan antibiofilm menunjukan 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 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 menembus 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 bekerja dengan menghambat produksi salah satu molekul sinyal dalam QS system yaitu *N-acyl-homoserine lactone* (AHL), senyawa terpenoid mempengaruhi regulasi molekul sinyal AHL, senyawa fenol mengurangi ekspresi faktor virulensi yang dikendalikan QS system, senyawa alkaloid mempengaruhi regulasi ekspresi dalam QS system

Author
Pada hasil ini nilai rmb harus diperlihatkan

Line Scoring
IC₅₀ penghambatan pembentukan biofilm adalah 8,64mg/ml direvisi menjadi MIC₅₀ adalah 8,64mg/ml

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 lebih rendah dibandingkan KHM dan KBM karena penghambatan pembentukan biofilm cukup dengan mengganggu proses komunikasi bakteri melalui QS system dengan mempengaruhi molekul sinyal 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/ml dan IC_{50} penghambatan pembentukan biofilm adalah 8,64 mg/ml. Golongan metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C.) diantaranya adalah alkaloid, flavonoid, terpenoid, steroid dan tanin dan saponin.

DAFTAR PUSTAKA

Astuti, N.K., Chusaidi, D., dan Marcella, S., 2024. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Kolaborasi dan Kesehatan*, 8(3), 249-261. <https://doi.org/10.30605/jik.v8i3.4761>

Bouyahya, A., Chamkhi, I., Babich, A., Rabour, M., Shurati, M. A., Whitnans, P., et al., 2022. Mechanisms, Anti-Quorum-Sensing Anticorona, and Clinical Trials of Medicinal Plant Bioactive Compounds against Bacteria: A Comprehensive Review. *Molecules*, 27(5), 1484. <https://doi.org/10.3390/molecules27051484>

Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1980. *Metode Medika Indonesia*. Jilid V, Departemen Kesehatan Indonesia, Jakarta.

Desmit, F., Harfa, dan Alimuddin, A.H., 2016. Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Terpenoid Ekstrak Metakol Akar Pokon Kayu Batu-Batu (*Excoecaria agallocha* L.). *Jurnal Kolaborasi dan Kesehatan*, 5(3), 25-30. <https://ejournal.unesa.ac.id/index.php/3IK/index/view/full/4299>

Hernando-Amado, S., Alcala-Rico, M., Gil-Gil, T., Valverde, J. R., & Martinez, J. L., 2020. Naringenin Inhibition of the *Pseudomonas aeruginosa* Quorum Sensing Response Is Based on Its Time-Dependent Competition With N-(4-Oxo-6-oxotetrahydro-2H-pyrimidin-2-yl)-L-homoserine Lactone for LysR Binding. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 7, Article 39. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2020.00039>

Jap, A.L.S., dan Widada, A.D., 2021. Diare Akut pada Anak yang Disebabkan oleh Infeksi. *Jurnal Kolaborasi Medika*, 27(3), 284-288. <https://doi.org/10.30433/jk.v27i3.284>

Kartika, V.R. dan Nasution, H.M., 2022. Skening Fitokimia Daun 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*, 4(4), 131-139. <https://jurnal.rahmahpublik.org/index.php/jhms/article/view/46>

Kurniasugila, S., 2019. *The Methods for Detection of Biofilm and Screening Antibiofilm Activity of Agents in Antimicrobials, Antibiotic Resistance, Antibiofilm Strategies and Activity Methods*. IntechOpen. Available at: <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.84415>. <https://doi.org/10.5772/intechopen.84415>

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

Maharogi, I., Sengul, M. dan Pandey, J., 2022. Penemuan kandungan tanin dan uji aktivitas antimikroba ekstrak biji buah alpukat (*Persea americana* Mill.). *Jurnal Mipa*, 5(1), pp 5-10. <https://doi.org/10.30755/jm.5.1.2022.041>

Panda, E.R., Mohan, A., Prusty, C., Bakers, S., and Prasad, B.R., 2025. Review : Anticorrosive properties and therapeutic potential of few medicinal plants: current insights and challenges. *Discover Plants*, 2(2). <https://doi.org/10.30673/dp.v2i2.4000674>

Perkembangan, H., Prasetyo, Y., Guswanto, R., Norman, M. N., & Adhika, F., 2024. Preliminary phytochemical screening (qualitative analysis) of *Centella asiatica* (Zingiberaceae). *Indonesian Journal of Biology*, 1(1), 1-5. <https://doi.org/10.30605/indonesianjournalofbiology.v1i1.1>

Perkembangan, R., 2016. Hubungan biofilm dengan infeksi: implikasi pada kesehatan masyarakat dan strategi pengobatannya. *Jurnal Ilmiah Kolaborasi dan Kesehatan*, 5(1), pp 4-14. <http://dx.doi.org/10.30605/jik.v5i1.14>

Triana, E., 2016. Aktivitas Antibakteri Bakteri *Escherichia coli* oleh Bakterienging secara *In Vitro*. *Berita Biologi*, 17(5), pp 77-84. <https://doi.org/10.30605/bb.v17i5.175>

Wu, Y., Bai, J., Zhang, K., Huang, Y., Qi, H., Jiang, Y. and Guo, H., 2016. Antimicrobial activity and membrane-disruptive mechanism of 3-p-oxo-oxocoumarin-6-benzoylquinazolin-4-one, a novel phenolic compound from pine needles of *Calluna heudelotii*, against *Staphylococcus aureus*. *Molecules*, 21(8), p.10184. <https://doi.org/10.3390/molecules210810184>

Zhang, M., Han, W., Gu, J., Gu, C., Jiang, Q., Deng, J., et al., 2022. Recent advances on the regulation of bacterial biofilm formation by herbal medicines. *Frontiers in Microbiology*, 13, p.103297. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.103297>

Author
Berikan nilai penalaran ilmiah dan etika

Line Scoring
1 minit 40s
Berikan keterangan tentang nilai rmb dan KBM

📄 📄 📄 📄 📄

Line Scoring
Diberikan keterangan tentang nilai rmb

Journal Farmasi Sains dan Terapan (Journal of Pharmacy Science and Practice)

Journal

Website

Workflow

Distribution

Users & Roles

Statistics

Articles

Editorial Activity

Users

Reports

Tools

Notifications

[JFST] Editor Decision

2025-10-30 02:45 PM

Dear Lisa Soegianto:

We have reached a decision regarding your submission to Jurnal Farmasi Sains dan Terapan (Journal of Pharmacy Science and Practice), "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".

Our decision is to: **Accept Submission**

Your manuscript will be published in JFST Volume 12 No. 2, October 2025 edition

Kind Regards,

apt. Dimas Aditya Suhendar, S.Farm., M.Pharm.

Faculty of Pharmacy, Widya Mandala Catholic University Surabaya

+6289699598523

dimas.aditya@ukwms.ac.id

Jurnal Farmasi Sains dan Terapan

<http://journal.wima.ac.id/index.php/JFST>

2025-10-25 10:33 AM

2025-10-30 02:45 PM

2025-10-30 03:23 PM

Search

Journal Farmasi Sains dan Terapan (Journal of Pharmacy Science and Practice)

p-ISSN 2338-8404 and e-ISSN 2657-2311

Journal Homepage: <http://journal.wima.ac.id/index.php/JFST/>

DOI: 10.33508/jf4.v12i2.7561

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 Affifah^a

^aFakultas Farmasi, Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya, Indonesia

Article info:

Received Date : 06/07/2025

Revised Date : 10/10/2025

Accepted Date : 20/10/2025

Keywords:

Kaffir Lime Leaves,

Minimum Inhibitory Concentration,

Minimum Bactericidal Concentration,

Antibiofilm,

Escherichia coli ATCC 25922,

Phytochemical Screening.

Corresponding Author*:

Lisa Soegianto

Fakultas Farmasi Universitas Katolik

Widya Mandala Surabaya, Jl. Raya

Kakasan 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 diendalikn dengan senyawa antibakteri dibawah kadar hambatan 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 90%(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%. Screening 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 92,86% dengan MBIC₅₀ antibiofilm 8,64 mg/ml.

Abstract



JURNAL FARMASI SAINS DAN TERAPAN

JOURNAL OF PHARMACY SCIENCE AND PRACTICE

ISSN 2338-8404

[Current](#) [Archives](#) [Announcements](#) [About](#)

[Search](#)

[Home](#) / [Archives](#) / Vol. 12 No. 2 (2025): October

Vol. 12 No. 2 (2025): October

DOI: <https://doi.org/10.33508/jfst.v12i2>

Published: 2025-11-24

Article

Kecerdasan Emosional dan Kualitas Akademik di Kalangan Mahasiswa Farmasi: Tinjauan Sistematis

Syahida Purnama, Anna Wahyuni Widayanti, Yayi Suryo Prabandari

64-79



Sinensetin pada Biji Pinang (*Areca catechu*) sebagai kandidat COX-2 Inhibitor pada Osteoarthritis: Studi In Silico

Anisa Maharani, Muthiah Nurhaliza, Iqlima Azzahra, Cindy Cindy, Kevin Gabriel, Agus Rusdin, Dhanita Novitasari

80-94



Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Limbah Biji Durian (*Durio zibethinus* L.) dengan Kepolaran Pelarut yang Berbeda

Nova - Komalasari, Tutik - Tutik, Putri - Amalia

95-103



Cost Effectiveness Analysis Penggunaan Favipiravir Dan Remdesivir Untuk Kasus Coronavirus Disease (Covid-19)

Devil Octavia, Nurdin Chaid, Riana Prasthiwi

104-110



Meningkatkan Efisiensi Pengelolaan Obat di Fasilitas Pelayanan Kesehatan Melalui Metode Pengendalian Persediaan: A Systematic Review

Stefanus Indra Gamawan, Diah Ayu Puspondari, Satrio

111-117



Scoping Review: Pola Penggunaan Antipsikotika Pada Pasien Skizofrenia Paranoid

Cahana Rastra Cotama, Yulistiani

118-128



Pola dan Konsumsi Antibiotik pada Pasien Pneumonia RSUD Abdul Wahab Sjahranie Samarinda

Normaliyah, Tri Murti Andayani, Dwi Endarti

129-138



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

Lisa Soegianto, Dwi Affah

139-145



[Make a Submission](#)



ABOUT THE JOURNAL

Online Submissions
Editorial Team
Reviewer
Focus and Scope
Open Access Policy
Publication Guidelines
Publication Ethics
Peer Review Process
Copyright Notice
Article Processing Charge
Plagiarism Check
Announcements
Contact Us

Visitors (since April 23, 2019):

[View My JSFT Stats](#)



TOOLS

